

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



Efeito da bioturbação na distribuição de metais e de
isótopos estáveis de Pb em sedimentos de sapal, no
estuário do Tejo

Rute Isabel Talhadas Cesário

MESTRADO EM BIOLOGIA E GESTÃO DE RECURSOS MARINHOS

2007

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



Efeito da bioturbação na distribuição de metais e de
isótopos estáveis de Pb em sedimentos de sapal, no
estuário do Tejo

Rute Isabel Talhadas Cesário

Dissertação orientada pelo Doutor Miguel José Martins Caetano, do Instituto Nacional dos Recursos Biológicos (INRB/IPIMAR), e pelo Professor Carlos Assis, Professor Auxiliar do Departamento de Biologia Animal da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

MESTRADO EM BIOLOGIA E GESTÃO DE RECURSOS MARINHOS

2007

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Miguel Caetano por ter possibilitado a realização deste trabalho, por ter aceite ser meu orientador, pela sua capacidade de trabalho, compreensão, disposição, amizade e pelo seu optimismo, um muito obrigado.

Ao Professor Carlos Assis pela co-orientação do trabalho.

Ao Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB/IPIMAR) e em especial ao Departamento de Ambiente Aquático, pela disponibilização dos meios necessários à realização deste trabalho.

Ao Nuno Fonseca, pelo companheirismo, espírito de equipa e ajuda prestada no trabalho de campo e laboratorial e também pela sua amizade, muito obrigado Nuno.

Aos colegas Rui e João Garcês, do IPIMAR, Departamento de Aquacultura, por toda a ajuda, disponibilidade e apoio na montagem do aparato para a realização do teste laboratorial, um grande obrigado.

Ao meu colega João Canário pela ajuda e paciência prestadas no fornecimento de bibliografias, muito obrigado João.

Às minhas colegas e Amigas Patrícia Pereira e Joana Raimundo, pela ajuda, disponibilidade, companheirismo, carinho e paciência incondicionais demonstradas ao longo de todo este trabalho, um muito obrigado minhas queridas.

À minha colega e Amiga Hilda de Pablo, pelo seu profissionalismo exemplar, companheirismo, disponibilidade incondicional, optimismo, carinho, muita compreensão, muita paciência e acima de tudo pela sua grande amizade, GRACIAS HIL.

À Vanda Franco, pelo companheirismo e espírito de entre ajuda ao longo da fase curricular do mestrado e também na realização deste trabalho, mas principalmente pela sua amizade, compreensão e carinho, muito obrigado minha querida.

A todos os meus colegas do IPIMAR, Vasco Branco, Marta Martins, Pedro Brito, Cristina Micaelo, Rute Granja, Isabelina e Marta Nogueira, que de certa forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado a todos.

À minha grande amiga Marlene, pela amizade, apoio e valioso contributo na revisão deste documento, muito obrigado Amiga.

A toda a minha família e amigos, sem esquecer nenhum, que me apoiaram ao longo deste trabalho, muito obrigado.

À minha Mãe, que sem a sua ajuda, amor, carinho, disponibilidade e compreensão, a realização deste trabalho não seria de todo possível, MUITO OBRIGADO MÃE.

Ao Pedro, pela sua paciência, compreensão e apoio ao longo destes dois anos de trabalho, obrigado Bé.

Por fim, à minha querida filha Joana Miguel, que com os seus 6 aninhos compreendeu muitas vezes a ausência da mãe o que tornou possível a realização deste trabalho, grande obrigado meu amor.

RESUMO

A bioturbação causada pelas plantas *Sarcocornia fruticosa* e *Spartina maritima* e pelo poliqueta *Nereis diversicolor* foi estudada em sedimentos do sapal do Rosário (Tejo). Foram colhidos cores de sedimento vegetado e não vegetado para a determinação das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb e das razões isotópicas $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ em profundidade. Estes parâmetros foram também determinados nas plantas. As concentrações destes metais na biomassa subterrânea foram 1-3 ordens de grandeza superiores aos valores encontrados nas partes aéreas sugerindo uma reduzida transferência de metais para as folhas e caules. Os sedimentos colonizados pelas plantas apresentaram níveis de Zn, Cu, Cd e Pb mais elevados que os sedimentos sem vegetação. Os perfis verticais das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ mostraram um decréscimo na direcção da superfície sugerindo o incremento da proporção de componentes antropogénicos de Pb face ao total. Estes sedimentos apresentaram uma assinatura isotópica de Pb similar à observada nas raízes, indicando que a retenção deste metal na planta não distingue isótopos de diferentes massas. Os factores de enriquecimento ($\text{FE} = [\text{Me}]_{\text{raiz}}/[\text{Me}]_{\text{sedimento}}$) calculados para cada camada sedimentar variaram em profundidade, indicando a existência de camadas preferenciais de acumulação de metais nas raízes de ambas as plantas.

A bioturbação causada pela *Nereis diversicolor* alterou a distribuição vertical de Zn, Cu, Cd e Pb no sedimento de forma diferente do observado para as plantas. O estudo da bioturbação por este poliqueta através das razões dos isótopos estáveis de Pb permitiu concluir que estes organismos transportam partículas de sedimento de zonas mais profundas para a superfície. Esta actividade foi classificada como “*upward conveyor*” de acordo com as classes previstas por Michaud *et al.*, 2006. Os resultados obtidos permitiram concluir que as razões isotópicas de Pb são traçadores do movimento de partículas no interior do sedimento.

PALAVRAS-CHAVE: Bioturbação, *Sarcocornia fruticosa*, *Spartina maritima*, *Nereis diversicolor*, metais, isótopos estáveis de chumbo.

ABSTRACT

Bioturbation by the plants *Sarcocornia fruticosa* and *Spartina maritima* and by the polychaetes *Nereis diversicolor* was study in sediments of Rosário salt marsh (Tagus, Portugal). Cores of sediments colonized and non-colonized by those plants were collected and depth variation (2-cm resolution) of Zn, Cu, Cd and Pb concentrations were determined. Stable lead isotopes were also studied and the ratios $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ and $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ determined in depth. The same parameters were also quantified in aboveground and belowground biomass of plants. The metal concentrations in belowground material were 1 to 3 orders of magnitude greater than levels in aboveground plant parts providing evidence of weak upward translocation. Colonized sediments present higher levels of Zn, Cu, Cd and Pb in than non-colonized sediments. Depth profiles of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ and $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ showed a decrease towards the surface as a result of a higher proportion of anthropogenic Pb components. A similar Pb isotopic signature was found in roots and in vegetated sediments indicating that plants uptake Pb with no distinguish between isotopes with different masses. Enrichment factors ($\text{EF} = [\text{Me}]_{\text{root}}/[\text{Me}]_{\text{sediment}}$) were calculated for each sediment layer varying with depth, suggesting the presence of preferential layers of metal accumulation in roots of both plants. Bioturbation by *Nereis diversicolor* changed the vertical distribution of Zn, Cu, Cd and Pb in the sediment but differently from that performed by plants. The study of bioturbation by stable Pb isotopes leads to the conclusion that this specie moved sediment particles from depth zones to the sediment surface. This activity was classified as “upward conveyor” accordingly to classes established by Michaud *et al.*, 2006. The obtained results suggested that Pb isotopic ratios were tracers of particle movements within the sediment.

KEYWORDS: Bioturbation, *Sarcocornia fruticosa*, *Spartina maritima*, *Nereis diversicolor*, metals, Lead Isotopes.

Índice

AGRADECIMENTOS	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
Índice.....	IV
Índice de Figuras	VI
Índice de Tabelas.....	VIII
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	1
1 Sistemas estuarinos	2
2 Sapais	2
3 Sedimento	3
3.1 Sedimento não perturbado	3
3.2 Sedimento perturbado - bioturbação.....	6
3.2.1 Efeito das plantas no sedimento	6
3.2.2 Efeito dos organismos bentónicos no sedimento.....	7
3.3 Plantas e animais: seus efeitos no sedimento.....	9
4 Mobilidade das razões isotópicas estáveis de chumbo em sapais	10
5 Objectivos.....	11
CAPÍTULO II – ÁREA DE ESTUDO	12
1 Estuário do Tejo.....	13
1.1 Descrição geral.....	13
1.2 Sapais do Estuário do Tejo	14
2 Local de Amostragem – Sapal do Rosário.....	14
2.1 Flora	15
2.2 Fauna bentónica	16
CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS	17
1 Descontaminação do material de laboratório	18
2 Amostragem.....	18
3 Ensaio laboratorial.....	19
4 Preparação e tratamento das amostras.....	21
4.1 Biomassa subterrânea	21
4.2 Biomassa aérea	21
4.3 Sedimento	22

4.4	Humidade total do sedimento	22
4.5	Matéria orgânica sedimentar.....	22
4.6	metais (alumínio, zinco, cobre, cádmio e chumbo) e isótopos estáveis de chumbo 22	
5	Controlo de qualidade analítico.....	24
5.1	Limite de detecção e erro de precisão	25
CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO		26
PARTE I – INFLUÊNCIA DAS PLANTAS NO SEDIMENTO		27
1	Biomassa subterrânea.....	27
2	Humidade e matéria orgânica sedimentar	28
3	Níveis de metais em sedimentos não vegetados.....	29
4	Níveis de metais em sedimentos vegetados.....	30
5	Teores de metais nas folhas, caules e biomassa subterrânea	33
6	Metais na biomassa subterrânea das plantas de sapal.....	34
7	Factores de enriquecimento	36
8	Assinatura dos isótopos de chumbo em sedimentos não vegetados.....	38
9	Assinatura isotópica de chumbo em sedimentos vegetados e na biomassa subterrânea	39
10	Estimativa de chumbo natural e antropogénico acumulado nas raízes	41
PARTE II – INFLUÊNCIA DOS ORGANISMOS MACROBENTÓNICOS NA QUÍMICA DO SEDIMENTO. TESTE LABORATORIAL.		43
1	Sedimento de controlo	43
2	Distribuição de metais em sedimentos colonizados por <i>Nereis diversicolor</i>	44
3	Assinatura dos isótopos estáveis de chumbo nos sedimentos de controlo.....	46
4	Assinatura dos isótopos estáveis de chumbo nos sedimentos com poliquetas <i>Nereis diversicolor</i>	46
5	Estimativa do chumbo natural e antropogénico nos sedimentos.....	49
CAPÍTULO V – CONSIDERAÇÕES FINAIS		50
CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		53

Índice de Figuras

Figura 1 — Sequência das reacções redox num sedimento sem perturbações físicas (adaptado de OzEstuaries, 2005).....	5
Figura 2 — Representação esquemática da zonação química de um sedimento não perturbado por organismos (a) e com bioturbação (b) (adaptado de DelValls <i>et al.</i> , 2007). ...	8
Figura 3 — Efeitos da Bioturbação do sedimento causada pelas plantas e por organismos macrobentónicos (adaptado de OzEstuaries, 2005).	10
Figura 4 – Localização do Estuário do Tejo (retirado de Google™) e sapal do Rosário.....	13
Figura 5 — Plantas do sapal do Rosário: <i>Sarcocornia fruticosa</i> e <i>Spartina maritima</i>	15
Figura 6 — Poliquetas <i>Nereis diversicolor</i>	15
Figura 7– Core de sedimento com vegetação no sapal do Rosário.....	18
Figura 8 – Representação esquemática dos cores num tanque do ensaio laboratorial.	19
Figura 9 – Esquema experimental do ensaio laboratorial.....	20
Figura 10 – Perfis de biomassa subterrânea em sedimentos vegetados pelas plantas <i>S. fruticosa</i> e <i>S. marítima</i> do Sapal do Rosário.	27
Figura 11 – Perfis verticais da percentagem de humidade e matéria orgânica sedimentar (MO) nos sedimentos não vegetados e colonizados com <i>S. fruticosa</i> e <i>S. marítima</i> do Sapal do Rosário.	28
Figura 12 - Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al em sedimentos não vegetados do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.	29
Figura 13 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al em sedimentos vegetados por <i>S. marítima</i> e <i>S. fruticosa</i> do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.	31
Figura 14 – Perfis verticais das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos sedimentos colonizados por <i>S. fruticosa</i> e <i>S. marítima</i> e na biomassa subterrânea do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.....	35
Figura 15 – Factores de enriquecimento ($FE_{\text{raiz/sedimento}}$) de Zn,Cu, Cd e Pb nas camadas com raízes das plantas <i>S. marítima</i> e <i>S. fruticosa</i> . As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.	37
Figura 16 – Perfil vertical das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos não vegetados do sapal do Rosário. As barras de desvio indicam o desvio padrão para n=5.	38
Figura 17 – Perfis de profundidade das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos colonizados por <i>S. marítima</i> e <i>S. fruticosa</i> e na biomassa subterrânea do Sapal do Rosário. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para n=5.	40
Figura 18 – Perfis verticais das concentrações de Pb antropogénico e natural, na biomassa subterrânea das plantas <i>S. fruticosa</i> e <i>S. marítima</i> , do sapal do Rosário.....	41
Figura 19 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al nos cores de sedimento de controlo. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.	43

Figura 20 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al nos cores de sedimento colonizados com poliquetas <i>Nereis diversicolor</i> , durante 31 dias. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.	44
Figura 21 – Perfis verticais das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos sem bioturbação. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para n=5.....	46
Figura 22 - Perfis verticais das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos com bioturbação por poliquetas <i>Nereis diversicolor</i> . As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para n=5.	47
Figura 23 – Perfis verticais específicos das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos controlo e nos sedimentos com poliquetas <i>Nereis diversicolor</i> . As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para n=5.....	47
Figura 24 - Perfis verticais das concentrações de Pb antropogénico nos sedimentos de controlo e com poliquetas <i>Nereis diversicolor</i>	49

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Parâmetros experimentais usados para o ensaio laboratorial.	20
Tabela 2 – Condições experimentais utilizadas na detecção de Al e Zn por AAS-Flame.	23
Tabela 3 – Parâmetros experimentais para a determinação de Cu, Cd, Pb e isótopos de Pb por ICP-MS.	23
Tabela 4 – Média e desvio padrão das concentrações de Al (%) e Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) certificadas e obtidas, nos padrões de sedimento MESS-3; BCSS-1, MAG-1, 1646a e AGV-1.	24
Tabela 5 – Média e desvio padrão das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) certificadas e obtidas nos padrões de plantas BCR-60 e BCR-61.	24
Tabela 6 – Concentrações médias e desvios padrões de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas folhas, caules e range dos teores na biomassa subterrânea das plantas <i>S. fruticosa</i> e <i>S. marítima</i> do Sapal do Rosário.	33

Capítulo I – Introdução

A bioturbação tem importantes consequências na biogeoquímica da coluna sedimentar dos ecossistemas devido, em geral, às alterações que as plantas e os animais causam no sedimento. Embora estes efeitos sejam característicos de sistemas prístinos, podem causar distúrbios significantes em solos contaminados. A mistura de sedimentos provocada pelos organismos e a capacidade de infiltração da água nos mesmos são dois dos principais resultados da bioturbação.

1 SISTEMAS ESTUARINOS

Um estuário pode ser definido como uma zona em que a água salgada do mar é diluída com água doce de origem fluvial, originando gradientes longitudinais, transversais e temporais nos mais variados parâmetros físico-químicos (matéria orgânica, metais, etc.). Esta mistura de águas promove a circulação da água controlando a distribuição e reactividade dos vários constituintes químicos (Förster, 1981). Na zona atlântica, os estuários são sujeitos à influência das marés que também influenciam a mistura e a formação de massas de água com características físico-químicas semelhantes (Morris, 1985). Este tipo de estuários é também caracterizado pela elevada concentração de matéria em suspensão, proveniente do rio à qual se adiciona a ressuspensão do material recentemente depositado (Morris, 1985).

2 SAPAIS

Os sapais podem ser definidos como sendo áreas intertidais constituídas por solos provenientes de sedimentos aluviais e estuarinos que são transportados pelas marés. Estes ecossistemas localizam-se em zonas temperadas colonizados por vegetação halófitas (plantas vasculares, herbáceas ou arbustivas) (Dijkema & Eisma, 1998) e, em Portugal, são regularmente inundados por águas estuarinas de salinidade variável (Caçador & Vale, 2002). Do ponto de vista geológico, os sapais podem ser caracterizados como sendo sistemas abertos que recebem, transformam e exportam sedimentos, matéria orgânica, nutrientes e metais (Caçador, 1994). As características que melhor classificam o sapal são a sua elevada complexidade e dinâmica, sendo dos ecossistemas que apresentam um maior grau de produtividade da biosfera (Teal, 1986; Richardson, 1999) uma vez que constituem a interface entre o meio terrestre e o meio marinho (Packam & Willis, 1997). Os sapais são ecossistemas influenciados pela acção conjunta de vários factores, nomeadamente a água, os sedimentos e a vegetação existente. São ecossistemas particularmente sensíveis a variações no nível da água do mar (Packam & Willis, 1997), e instáveis em relação a parâmetros tais como a temperatura, a salinidade, o oxigénio dissolvido, os nutrientes e a turbacão (Reboredo, 1988). Consequentemente, são ecossistemas onde ocorrem um elevado número de reacções físico-químicas e biogeoquímicas na coluna de água e na interface entre a água e o sedimento (Chenhall *et al.*, 1992).

3 SEDIMENTO

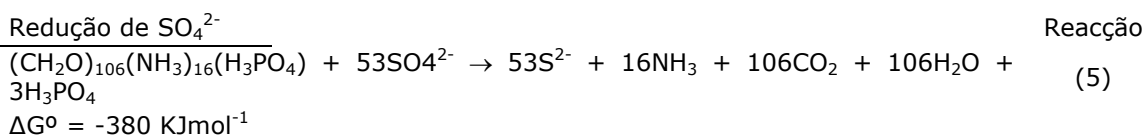
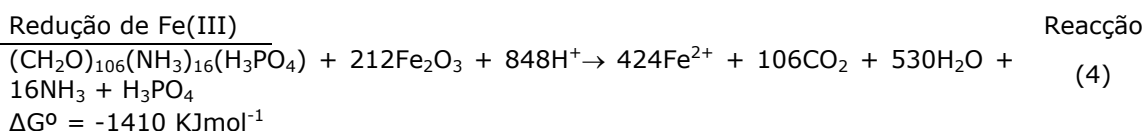
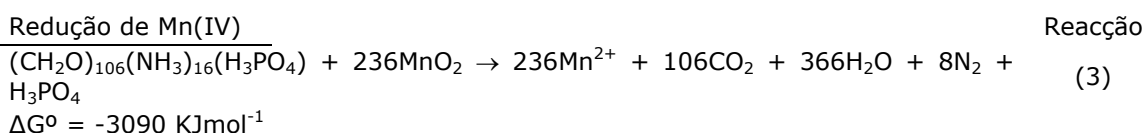
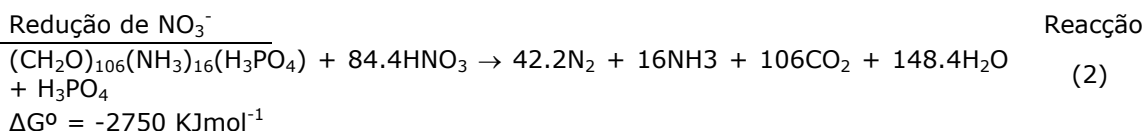
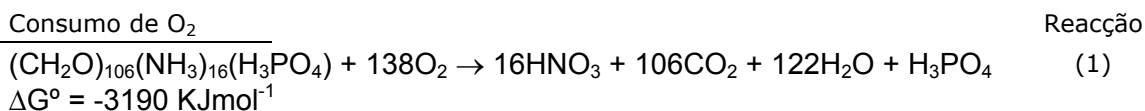
O sedimento é uma entidade complexa formada por água, minerais, matéria orgânica, partículas de origem geológica e organismos vivos. Enquanto compartimento dos ecossistemas aquáticos desempenha múltiplas funções essenciais, tais como armazenamento e transformação de compostos naturais e contaminantes, regeneração de nutrientes, habitat para fauna e flora, etc. As partículas que compõem os sedimentos contêm uma mistura complexa de materiais orgânicos e inorgânicos, sendo os seus principais constituintes: argilas, quartzo, feldspatos, carbonatos de origem biogénica e geogénica e oxi-hidroxidos de ferro e manganês (Caetano, 1998; Lavrado, 2003). No sedimento ocorre uma grande diversidade de processos químicos, físicos e biológicos que provocam alterações físicas e/ou químicas que são designadas por processos diagenéticos ou diagénese. São exemplos a cimentação, a compactação, a difusão (molecular, dispersão, mistura e bioturbação), a degradação da matéria orgânica e as reacções de oxidação – redução (Berner, 1980). Hipoteticamente, os sedimentos são ambientes químicos bem estruturados, abertos e dinâmicos. Na ausência de perturbações físicas, a estrutura química do sedimento é mais simples: tem duas dimensões e consiste em camadas paralelas à interface sedimento-água, que apresentam progressivas alterações na composição química. Animais bentónicos alteram esta estruturação quando perfuram o sedimento ou misturam partículas de diferentes camadas (DelValls et al., 2007). Outro tipo de organismos, as plantas, provocam movimentos físicos menores devido ao crescimento das raízes. No entanto, todas estas alterações afectam o transporte de gases, solutos e matéria particulada dentro do sedimento e entre o sedimento e a água sobrenadante (Vale & Sundby, 1998).

3.1 SEDIMENTO NÃO PERTURBADO

O conceito de zonação química refere-se à diferença na composição química entre o interior do sedimento e a interface entre o sedimento e a água sobrenadante ou o ar. Para além das clássicas interfaces será também de considerar a interface raiz – sedimento ou a parede de uma cavidade criada por um animal bentónico e preenchida por água. Em cada caso é criada uma zonação química através do fluxo de solutos e gases dissolvidos ao longo da interface e o seu consumo no interior do sedimento (DelValls et al., 2007; Vale & Sundby, 1998).

As condições existentes nos sedimentos são drasticamente diferentes das encontradas na água. Enquanto que na água o oxigénio dissolvido existe em quantidade suficiente para ser utilizado nas reacções de oxidação, no sedimento o oxigénio existe apenas na camada superficial (entre mm e cm de espessura) sendo consumido durante a oxidação da matéria orgânica aí presente (Vale, 1989). À medida que a concentração de oxigénio (O_2) diminui outros oxidantes são, conseqüentemente, utilizados na degradação do material orgânico depositado. A sequência das espécies oxidantes utilizada [O_2 , NO_3^- , óxidos de metais (Fe (III) e Mn (IV)), SO_4^{2-}] é determinada pela energia livre de Gibbs (ΔG^0). Sendo a oxidação da matéria orgânica pelo oxigénio mais favorável termodinamicamente, e estando esse elemento presente abundantemente à superfície do sedimento, esta espécie química é a

primeira a ser utilizada (reacção 1). A diminuição da sua concentração, com a profundidade, leva a que sejam utilizados sequencialmente outros oxidantes, nitrato (NO_3^-) (reacção 2), Manganês (Mn^{4+}) (reacção 3), Ferro (Fe^{3+}) (reacção 4) e sulfato (SO_4^{2-}) (reacção 5).



A espessura da camada em que cada reacção domina depende do ambiente sedimentar, podendo ser muito fina, e a fronteira que as separa de difícil identificação se considerarmos sedimentos vasosos intertidais. Em sedimentos oceânicos a quantidade de matéria orgânica é menor e a separação entre as zonas é melhor definida. Alguns dos oxidantes utilizados na decomposição da matéria orgânica provêm da coluna de água (O_2 , NO_3^- e SO_4^{2-}) migrando através da interface sedimento – água para a água intersticial. Outros oxidantes são produzidos no interior do sedimento. O óxido de manganês (MnO_2) é o oxidante preferencial da matéria orgânica quando a sua concentração for muito superior à de O_2 e de NO_3^- (Stumm & Morgan, 1996). O ião manganês (Mn^{2+}) resultante difunde para a superfície onde volta a precipitar sob a forma de oxi – hidróxidos (Aller, 1994). A degradação da matéria orgânica por acção do ferro (Fe(III)) (reacção 4) é termodinamicamente menos favorável que a anterior (reacção 3), mas é reconhecidamente um processo muito importante (Burdige, 1993), dado que, de um modo geral, a concentração dos compostos de ferro é muito superior à de manganês. O ião ferro (Fe^{2+}) resultante difunde no sentido da superfície do sedimento, onde é oxidado pelo MnO_2 (Lovely & Phillips, 1998) e pelo O_2 (Davison *et al.*,

1991). De acordo com a sequência de reacções apresentada para sistemas marinhos, o ião sulfato (SO_4^{2-}) é o oxidante de matéria orgânica utilizado quando a sua concentração é muito superior à dos outros oxidantes. O ião enxofre (S^{2-}) produzido nesta reacção difunde-se no sentido da interface sedimento – água onde reage com o Fe^{2+} , dando origem a sulfuretos de ferro. É necessário referir que todas estas reacções químicas são mediadas bacteriologicamente (Sundby, 2006). Este consumo sequencial cria uma zonação química no sedimento que hipoteticamente sem bioturbação está esquematizado na Figura 1.

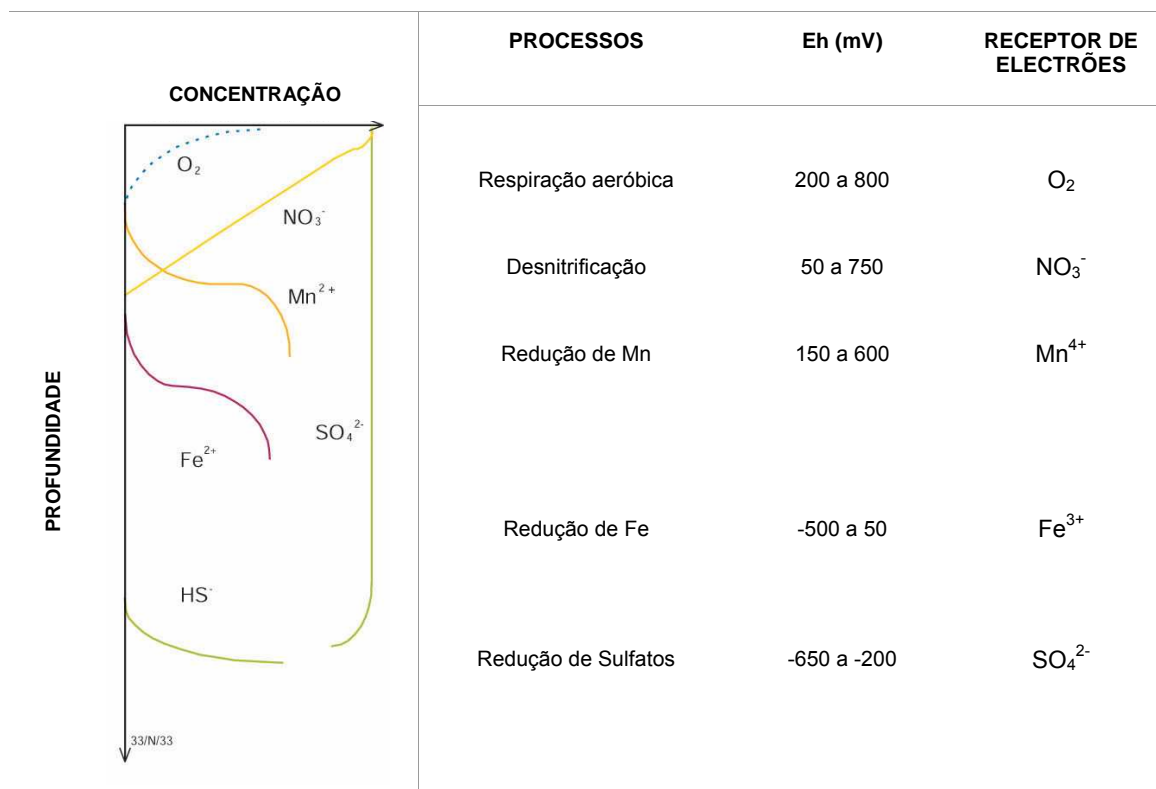


Figura 1 — Sequência das reacções redox num sedimento sem perturbações físicas (adaptado de OzEstuaries, 2005).

As fronteiras entre as várias zonas que caracterizam a zonação química não estão localizadas a uma distância fixa a partir da interface, variando espacialmente e temporalmente devido às alterações de temperatura, composição química da água de fundo e *input* do carbono orgânico (DelValls *et al.*, 2007; Vale & Sundby, 1998). A presença destas reacções altera a distribuição e o fluxo de diversos solutos. Para o caso dos metais, alterações de solubilidade ocorrem devido à formação de espécies oxidadas de manganês e ferro e devido à precipitação/co-precipitação de sulfuretos metálicos. Em sedimentos compostos por elevadas quantidades de matéria orgânica ou sujeitos a ambientes com temperaturas elevadas, as velocidades das reacções são tão elevadas que a sequência completa de reacções fica restrita a uma fina camada perto da interface e o processo global de mineralização da matéria orgânica será dominado por processos anaeróbicos (redução de SO_4^{2-}) (Vale & Sundby, 1998).

3.2 SEDIMENTO PERTURBADO - BIOTURBAÇÃO

3.2.1 EFEITO DAS PLANTAS NO SEDIMENTO

Nas zonas intertidais as plantas colonizam os locais com baixa hidrodinâmica favorecendo a retenção de partículas finas de matéria particulada. Tal efeito causa o elevamento natural das zonas vegetadas relativamente às áreas não vegetadas. Para além deste factor também os detritos das plantas contribuem para o elevamento dos sapais que conjuntamente com partículas finas de elevada área específica têm grande capacidade para reter contaminantes (Caçador *et al.*, 1996a).

As plantas provocam apenas pequenos movimentos no sedimento que resultam principalmente do crescimento das raízes. No entanto, a interacção entre o sedimento e as raízes é extremamente complexa, abrangendo um vasto conjunto de processos químicos e biológicos resultando em alterações substanciais na química dos sedimentos (Caçador *et al.*, 1996a, b; Reboreda & Caçador, 2007a). O *uptake* dos metais pelas plantas parece ser influenciado primariamente pela capacidade das raízes em oxidar os sedimentos em seu redor (Clothier & Green, 1997; Sundby *et al.*, 2005). O excesso de oxigénio que é transportado pelas raízes e não consumido durante a respiração é difundido no sedimento circundante provocando a oxidação dos componentes reduzidos, tanto no sedimento, como nas águas intersticiais (Haines & Duun, 1985). A oxidação de sulfuretos insolúveis torna os metais solúveis e disponíveis para as raízes (Caçador *et al.*, 2000b; Sundby *et al.*, 2003). A introdução de oxigénio em camadas mais profundas do sedimento é um dos processos que causa alterações químicas no sedimento. Para além de modificar a utilização de oxidantes no sedimento, o oxigénio altera também o potencial redox médio do sedimento e o seu pH (Armstrong, 1978). Estas modificações podem variar com a actividade da planta, ao longo do tempo, alterando a partição dos metais na rizosfera (Sundby *et al.*, 2005). As plantas criam também um fluxo unidireccional de água e solutos do sedimento para a superfície radicular, contribuindo para o enriquecimento da água intersticial em diversos solutos, oxigénio, nutrientes e metais. Deste modo, afectam a acumulação de metais vestigiais no sedimento e a sua distribuição. A biodisponibilidade dos metais no sedimento é alterada por diversos factores tais como o pH, potencial redox, salinidade, tamanho das partículas e teor em matéria orgânica (Alloway, 1990; Williams *et al.*, 1994). Vários estudos demonstraram que as áreas de sapal vegetadas concentram maiores quantidades de metais nos sedimentos, principalmente até à profundidade onde as raízes penetram, comparativamente com outras zonas não vegetadas (Reboredo, 1988; Otte *et al.*, 1993; Caçador, 1994; Caçador *et al.*, 1996a, b; 2000a, b; Madureira *et al.*, 1997; Doyle & Otte, 1997; Caçador & Vale, 2001, 2002; Vale *et al.*, 2003; Almeida *et al.*, 2004, 2006; Sundby *et al.*, 1998, 2003, 2005; Deng *et al.*, 2004; Reboreda & Caçador, 2007a, b; Sousa *et al.*, 2008). Estudos realizados em sapais do estuário do Tejo, mostraram que os sedimentos entre as raízes da *Spartina maritima* retêm teores de metais superiores aos observados no sedimento colonizado por *Halimione portulacoides*. No entanto, o padrão oposto foi observado nos tecidos das plantas, sendo os teores aproximadamente 2 vezes mais elevados para a *Halimione portulacoides* (Caçador *et al.*, 2000b).

3.2.2 EFEITO DOS ORGANISMOS BENTÓNICOS NO SEDIMENTO

Diversos organismos bentônicos provocam alterações na estrutura da camada superficial do sedimento, quando se movimentam e alimentam. Estas actividades alteram propriedades físicas e químicas do sedimento por períodos de tempo que variam entre horas e dias, e modificam também a composição da comunidade em redor (Giangrande *et al.*, 2001). Uma das mais importantes características dos animais bentônicos é promover a troca de material entre o interior do sedimento e a água sobrenadante ou o ar (Vale & Sundby, 1998). Diversos estudos têm contribuído para a compreensão do papel funcional da comunidade macrobentônica na estabilização do sedimento (Meadows & Tufail, 1986; Widdows *et al.*, 1998a, b; 2000a, b; Widdicombe *et al.*, 1999).

O comportamento da macrofauna nem sempre produz o mesmo efeito na estrutura e composição biogeoquímica do sedimento (Jones & Jago, 1993; Petersen *et al.*, 1998), já que é possível distinguir diferentes tipos de actividades de escavadores: crustáceos (Botto & Iribarne, 2000; Hughes *et al.*, 2000), decápodes (Bird *et al.*, 2000), anfípodes (Meadows *et al.*, 1990; Mouritsen *et al.*, 1998; Rasmussen *et al.*, 1998), bivalves (Shand, 1991; Widdows *et al.*, 1998b, c, 2000b) e poliquetas (Meadows & Hariri, 1991; Jones & Jago, 1993; Tita *et al.*, 2000; Clavero *et al.*, 1991; Svensson *et al.*, 2000).

A importância da bioturbação na biogeoquímica do sedimento originou a definição de grupos funcionais em função do modo como alteram a estrutura sedimentar, pela mistura e transporte de sedimento (Michaud *et al.*, 2005, 2006; Duport *et al.*, 2006; Fernandes *et al.*, 2006; Nogaro *et al.*, 2007). De acordo com estes autores foram estabelecidos cinco grupos funcionais: (i) "*Regenarators*" - característicos de espécies escavadoras que transferem sedimento de fundo para a superfície onde é substituído por sedimento de assinatura superficial; (ii) "*Gallery-diffusers*" - incluem espécies que escavam galerias no sedimento proporcionando uma distribuição biodifusiva nas camadas superiores de sedimento. A construção das galerias provoca um transporte advectivo de partículas da superfície para o fundo destas estruturas, devido à produção de fezes e arrastamento de sedimentos na sequência dos movimentos ondulatórios dos macroorganismos; (iii) "*Biodiffusers*" - incluem espécies cujas actividades resultam num transporte difusivo de sedimento, movendo as partículas de sedimento de um modo aleatório em curtas distâncias; (iv) "*Upward-conveyors*" - incluem espécies orientadas verticalmente no sedimento, de cabeça para baixo, que removem o sedimento de zonas mais profundas do substrato e o expelem na superfície; (v) "*Downward-conveyors*" - incluem espécies que se orientam no sedimento verticalmente de cabeça para cima causando um transporte activo de sedimento, através do aparelho digestivo, no sentido da superfície para zonas mais profundas, onde produzirão as fezes.

O transporte de partículas de sedimento está também relacionado com o tipo de alimentação dos organismos bentônicos. Por exemplo, os poliquetas depositívoros (*deposit feeders*) alimentam-se abaixo da superfície do sedimento e depositam as suas fezes na superfície ou em buracos escavados (Vale & Sundby, 1998; DelValls *et al.*, 2007). Este transporte envolve fenómenos de bioadvecção e subducção que consistem na deslocação de uma camada de sedimento do topo para uma zona inferior à medida que o material dos depositívoros é

depositado no topo. O sedimento subductado volta para a superfície quando a camada entra na zona de alimentação.

Muitos organismos bentônicos constroem cavidades que estão conectadas com a água sobrenadante. A troca de água das cavidades com a água sobrenadante permite o transporte de oxigénio para o seu interior difundindo para ambientes anóxicos do sedimento. Deste modo, a sequência de reacções descrita para a oxidação da matéria orgânica em sedimentos sem perturbações é bastante alterada (Figura 2) e as fronteiras da zonação química óxica-subóxica e subóxica-anóxica variam bastante (Aller, 1980). Isto afecta os ciclos biogeoquímicos do ferro, manganês e enxofre, cujas formas reduzidas difundem na direcção destas interfaces precipitando como óxidos ou sulfuretos (Vale & Sundby, 1998). Por exemplo, o transporte de sedimento superficial rico em óxido de manganês (insolúvel) para um ambiente anóxico causa a redução de Mn (IV) para Mn (II) e formação de sulfureto de manganês que é solúvel. Quando estas partículas são novamente transportadas para a superfície são re-oxidadas e o Mn precipita na forma de óxidos. Aller & Yingst (1978) demonstraram que o Fe, Mn e o Zn acumulam na interface das cavidades como resultado de processos intensos de decomposição na direcção das cavidades e de mobilização dos metais a partir do sedimento adjacente. A mistura de um sedimento não superficial que contenha sulfureto de cádmio, com a camada superficial oxidante, origina a oxidação deste composto e a consequente libertação do cádmio dissolvido.

De acordo com estudos realizados por Aller, (1978) a geometria de difusão das cavidades formadas por organismos bentônicos é semelhante a um sistema com raízes. Quando existe um elevado número de cavidades o sedimento torna-se mais permeável e apresenta comportamentos semelhantes à presença de raízes.

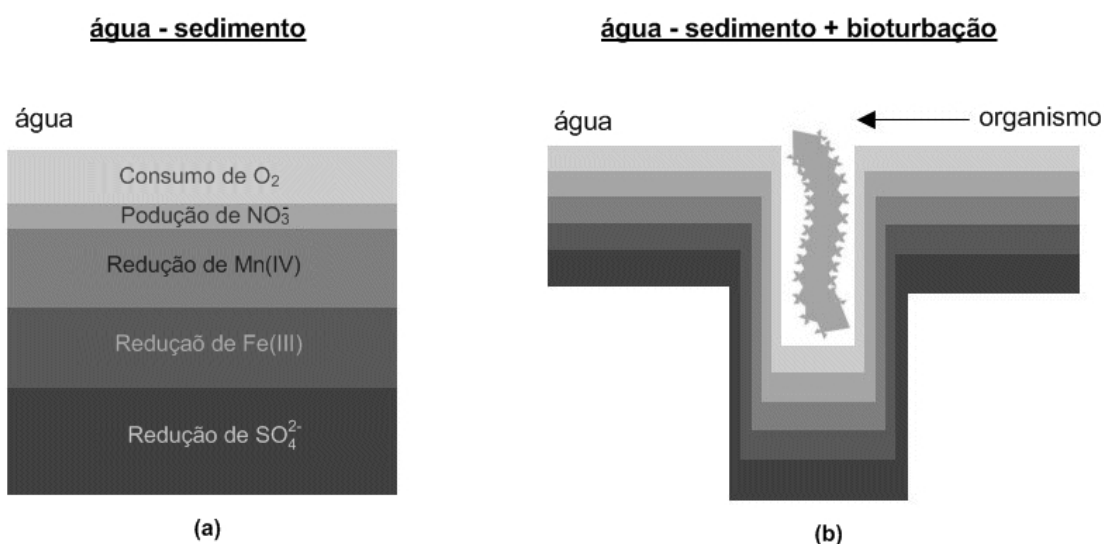


Figura 2 — Representação esquemática da zonação química de um sedimento não perturbado por organismos (a) e com bioturbação (b) (adaptado de DelValls *et al.*, 2007).

Sob o ponto de vista físico-químico, está já provado que a bioturbação desempenha um papel importante na desnitrificação de sedimentos marinhos (Gilbert *et al.*, 1995; Rysgaard *et al.*, 1995), na reciclagem (Clavero *et al.*, 1992; Giordani *et al.*, 1992) e transporte de nutrientes do sedimento para a coluna de água (Watson *et al.*, 1993), na distribuição de contaminantes (Kure & Forbes, 1997; Petersen *et al.*, 1998; Rasmussen *et al.*, 1998) e na decomposição da matéria orgânica (Andersen & Kristensen, 1991).

A bioturbação está também relacionada com alterações da composição química do sedimento promovendo a actividade microbiana (Rasmussen *et al.*, 1998). Esta actividade pode ser aumentada pela transferência de partículas do sedimento depositado em camadas mais profundas, tanto pelo transporte de compostos reduzidos e oxidados como pela incorporação de matéria orgânica através das *pellets* fecais. Trabalhos anteriores aplicaram o estudo da bioturbação tendo em conta factores como a nutrição que os organismos possuem (Gerino *et al.*, 1995, 1999; Flach *et al.*, 1998; Turnewitsch *et al.*, 2000; Green *et al.*, 2002), o tamanho dos organismos, o modo como escavam o sedimento (Swift *et al.*, 1996) e a presença de buracos/galerias (Dellapenna *et al.*, 1998). Outros estudos têm seguido uma aproximação mais teórica, relacionando coeficientes de biodifusão (Db) com parâmetros biológicos em modelos simplificados de actividade biológica (Wheatcroft *et al.*, 1990; François *et al.*, 2002; Meysman *et al.*, 2003; Mugnai *et al.*, 2003; Solan *et al.*, 2004). Em diversos trabalhos foram analisados os efeitos de organismos na distribuição de contaminantes (Gilbert *et al.*, 1996, 2003; Rasmussen *et al.*, 1998), no entanto o aspecto inverso tem sido pouco explorado (Mulsow *et al.*, 2002).

3.3 PLANTAS E ANIMAIS: SEUS EFEITOS NO SEDIMENTO

As plantas e os animais modificam a composição química e a estrutura física dos habitats sedimentares. Fazem-no de modo a satisfazerem as suas necessidades de nutrição e suporte estrutural, no caso das plantas, e de alimentação e abrigo no caso dos animais (Figura 3). Os organismos bentónicos desenvolvem estratégias que lhes permitem funcionar em plenas condições na presença dos constituintes do sedimento que de outro modo lhe seriam tóxicos. Conceitos como disponibilidade biológica e toxicidade de metais vestigiais e outras substâncias, definidos como medidas de composição química do sedimento, tornam-se assim difíceis de aplicar ao sedimento a não ser que se tenha uma perfeita compreensão de como os organismos vivos interagem com o ambiente sedimentar. Estes efeitos na estrutura do sedimento têm sido largamente estudados com recurso a técnicas analíticas sofisticadas e a marcadores radioquímicos de partículas como o ^{210}Pb (Chumbo); ^{137}Cs (Césio); ^{234}Th (Tório) e ^7Be (Berílio) para estimar a magnitude do coeficiente de mistura biológico (Goldeberg & Koide, 1962; Aller & Cochran, 1976; Schink & Guinasso, 1977; Silverberg *et al.*, 1986). O grande desenvolvimento tecnológico do ICP-MS (espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo) tem permitido facilmente a determinação de diversos de isótopos estáveis de diversos metais (ex. ^{206}Be , ^{208}Pb) com precisões adequadas para estudos ambientais (Alfonso *et al.*, 2001).

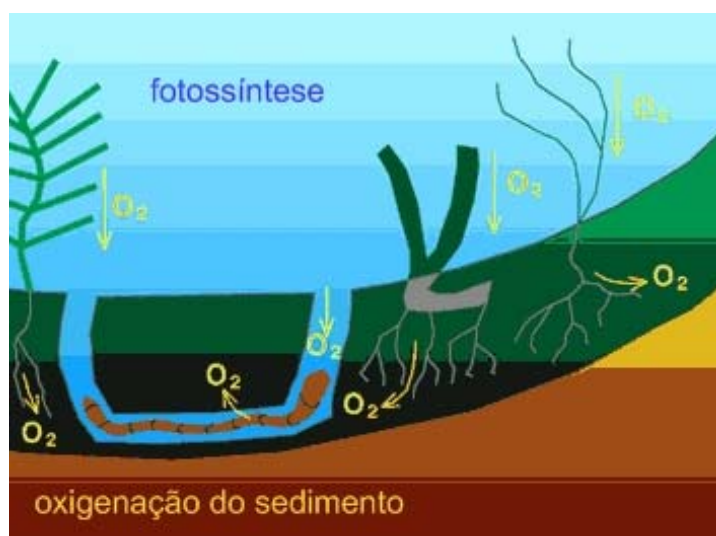


Figura 3 — Efeitos da Bioturbação do sedimento causada pelas plantas e por organismos macrobentônicos (adaptado de OzEstuaries, 2005).

4 MOBILIDADE DAS RAZÕES ISOTÓPICAS ESTÁVEIS DE CHUMBO EM SAPAIS

O estudo dos isótopos estáveis de chumbo (Pb) fornece indicações acerca das fontes de Pb (Gobeil *et al.*, 2001). O Pb tem quatro isótopos estáveis: ^{204}Pb ; ^{206}Pb ; ^{207}Pb e ^{208}Pb . Os últimos três são os membros finais das cadeias de decaimento de Urânio ($^{238}\text{U} \rightarrow ^{206}\text{Pb}$; $^{235}\text{U} \rightarrow ^{207}\text{Pb}$) e Tório ($^{232}\text{Th} \rightarrow ^{208}\text{Pb}$), enquanto que o isótopo ^{204}Pb não provém de nenhum decaimento radioactivo. A razão $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ é mais usada em estudos ambientais porque a sua quantificação usando um ICP-MS (quadrupolo) é mais rigorosa devido à semelhança na abundância dos dois isótopos: $^{206}\text{Pb} = 23.6\%$ de Pb total e $^{207}\text{Pb} = 22.6\%$ (Alfonso *et al.*, 2001). As razões isotópicas deste metal variam com as emissões antropogénicas devido à grande variedade de minérios usados em diversas actividades industriais como aditivos de chumbo nas gasolinas ou combustão de coque (Cundy *et al.*, 1997; Alleman *et al.*, 2000; Bollhofer & Rosman, 2001).

A detecção de Pb acima de um valor de Pb natural é usualmente estudada com o auxílio de determinações das razões isotópicas de Pb porque o Pb antropogénico geralmente difere do Pb natural (Kong *et al.*, 2000). Os isótopos estáveis de Pb têm sido estudados em diversos sapais (Cundy *et al.*, 1997; Hoven *et al.*, 1999; Marcantónio *et al.*, 1999; Alfonso *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004). As diferenças e os paralelismos entre os sedimentos e as raízes não têm sido examinadas até então, embora seja evidente que as plantas têm um papel fundamental no ciclo de Pb em sapais (Sundby *et al.*, 2005). Sendo a composição isotópica de Pb fracamente afectada por processos cinéticos que ocorrem entre a fonte de Pb e o local de deposição/retenção (Gobeil *et al.*, 2001), estas razões podem ser utilizadas como traçadores da actividade de organismos bentónicos no sedimento.

5 OBJECTIVOS

Os objectivos do presente trabalho são os seguintes:

- Estudar o efeito da bioturbação do sedimento pelas plantas *S. fruticosa* e *S. maritima* na distribuição dos metais Zn, Cu, Cd e Pb e na assinatura de isótopos estáveis de Pb;
- Estudar o efeito da bioturbação do sedimento pelos poliquetas *Nereis diversicolor*, na distribuição dos metais Zn, Cu, Cd e Pb e na assinatura de isótopos estáveis de Pb;
- Comparar as interacções plantas-sedimento e organismos macrobentónicos-sedimento para avaliar a extensão da bioturbação de cada tipo de organismo

Capítulo II – Área de Estudo

1 ESTUÁRIO DO TEJO

1.1 DESCRIÇÃO GERAL

O estuário do Tejo é o maior sistema estuarino de Portugal e um dos maiores da costa atlântica europeia, ocupando cerca de 320 Km² (na preia-mar), e um comprimento de 80 Km desde a foz (S. Julião da Barra) até Muge (limite dinâmico da maré) (Caçador *et al.*, 1999). A largura do estuário varia entre 0.7 Km no extremo montante, 15 Km na parte central e 2 Km na embocadura (Vale, 1986) (Figura 4). Este estuário é caracterizado por um ciclo de marés semidiurno (cerca de 12 h 25 min. por ciclo) sendo os tempos de enchente mais longos que os de vazante (Ferreira, 1989) e com uma amplitude de maré de 2.6 ± 1.8 m. O estuário superior é caracterizado por uma baía interior extensa e pouco profunda (Vale, 1990) com numerosos canais separados por ilhas (Caçador *et al.*, 1996a). No estuário inferior a ligação à zona costeira é feita por um canal de saída profundo, direito e estreito (Dias & Marques, 1999). A principal fonte de água doce para o estuário é o rio Tejo. O caudal médio anual deste rio é de 400 m³.s⁻¹ que corresponde a uma variação mensal de 60 m³.s⁻¹ a 2200 m³.s⁻¹. O tempo de residência da água doce no estuário varia entre 65 dias para caudais na ordem dos 100 m³.s⁻¹ e 6 dias para caudais de cheia (2211 m³.s⁻¹) (Sirgado, 1995). A circulação da água no estuário é essencialmente influenciada pela acção das marés, sendo o efeito das correntes induzidas pelos caudais fluviais do rio Tejo um factor importante nas zonas a montante.



Figura 4 – Localização do Estuário do Tejo (retirado de Google™) e sapal do Rosário.

Os sedimentos do estuário do Tejo, à semelhança do observado para a maioria dos estuários, são de origem telúrica e marinha. A distribuição do tipo de sedimento no estuário depende das variações de caudal do rio Tejo assim como da intensidade das correntes. O estuário do Tejo é sujeito a grande pressão ambiental devido à concentração de indústrias, circulação rodoviária e esgotos urbanos das suas margens, onde vivem cerca de 3 milhões e meio de habitantes (www.ine.pt).

1.2 SAPAIS DO ESTUÁRIO DO TEJO

A zona de sapal do estuário do Tejo ocupa aproximadamente 200 hectares principalmente localizados na margem sul, onde se encontram as maiores manchas com vegetação halófitas. Nesta margem, a vegetação ocorre numa extensa faixa contínua na região de Pancas, bem como em numerosas manchas de menor dimensão e estrutura variável nas bacias do Rosário e Corroios ([Caçador, 1994](#)). As espécies halófitas *Spartina maritima*, *Halimione portulacoides* e *Sarcocornia fruticosa* são as mais importantes na composição, estrutura e dinâmica das formações de vegetação superior presentes nestes sapais ([Caçador, 1994](#)). Os sapais do estuário do Tejo são conhecidos como sequestradores efectivos de metais na medida em que, devido à acção das marés, incorporam grandes quantidades de metais tanto nos sedimentos como nas plantas ([Caçador et al., 1996a, 2000a, b](#)).

2 LOCAL DE AMOSTRAGEM – SAPAL DO ROSÁRIO

O sapal do Rosário situa-se na margem sul do estuário, na baía do Montijo, próximo de um conjunto importante de fontes poluentes provenientes de várias indústrias, nomeadamente, metalúrgica, química, de adubos e pesticidas, automóvel e agro-indústria, que se concentram essencialmente nos concelhos do Barreiro e do Seixal. Nos concelhos da Moita, Montijo e Alcochete existe um grande número de explorações de suinicultura, uma actividade agro-industrial que produz esgotos com grande quantidade de poluição. Este tipo de indústrias origina efluentes altamente contaminados, caracterizados genericamente por elevados teores em matéria orgânica, óleos e gorduras, sulfatos e metais pesados. Estudos anteriores revelaram que este sapal apresenta forte contaminação por metais pesados ([Caçador, 1994](#); [Vale, 1986, 1990](#) [Vale et al., 2003](#); [Caçador et al., 1996a, b, 1999, 2000a, b](#); [Caçador & Vale, 2001, 2002](#); [Sundby et al., 1998, 2003](#); [Reboreda & Caçador, 2007a, b, 2008](#); [Sousa et al., 2008](#)) e que a vegetação influencia a acumulação de metais no sedimento. Nesta zona de sapal há grande abundância das espécies colonizadoras *Spartina maritima* e *Sarcocornia fruticosa* (Figura 5), e do poliqueta *Nereis diversicolor* (Figura 6).

Sarcocornia fruticosa*Spartina maritima*Figura 5 — Plantas do sapal do Rosário: *Sarcocornia fruticosa* e *Spartina maritima*.Figura 6 — Poliquetas *Nereis diversicolor*.

2.1 FLORA

O sapal do Rosário é colonizado por plantas halófitas que têm um sistema de arênquimas muito desenvolvido através do qual transportam o oxigénio atmosférico das folhas para as raízes (Caçador & Vale, 2001). As zonas de baixo sapal são geralmente inundadas duas vezes por dia, diminuindo a frequência de inundação para a parte mais alta do sapal. Deste modo, a altura da maré e as características do sedimento determinam a distribuição das plantas no sapal (Caçador & Vale, 2002). Existe uma zonation típica no sapal do Rosário, na qual a *Spartina maritima* é a espécie pioneira, na zona mais baixa do sapal e assume o importante papel de retenção das partículas em suspensão arrastadas pela maré (Caçador & Vale, 2002). No sentido de cotas crescentes, no sapal médio ou maduro, encontra-se um coberto vegetal formado por *Halimione portulacoides* e *Sarcocornia fruticosa*.

2.2 FAUNA BENTÓNICA

A fauna nas zonas intertidais do estuário do Tejo é diversificada, sendo abundante em poliquetas, bivalves, cefalópodes e crustáceos com destaque para o poliqueta *Nereis diversicolor*, a lambujinha *Scrobicularia plana*, o camarão comum *Crangon crangon* e o caranguejo-verde *Carcinus maenas* (Saldanha, 1980; Dias & Marques, 1999). Uma das espécies mais abundantes (430 - 16.000 ind m⁻²) é a *Nereis diversicolor* (Fidalgo e Costa *et al.*, 1998, Abrantes *et al.*, 1999) que possui uma elevada tolerância a variações de salinidade. Esta espécie pode habitar zonas de areia, areia vasosa, vasa arenosa e de vasa (Fidalgo e Costa *et al.*, 1998) tendo sido seleccionada para este estudo devido ao seu comportamento (estratégias de consumo e formas de bioturbação do sedimento) e pela relativa facilidade de manuseamento e manutenção em laboratório.

Os poliquetas *Nereis diversicolor* constroem galerias de cavidades bastante complexas, que estão interligadas umas com as outras estendendo-se até cerca de 30 cm de profundidade. A construção destas galerias está relacionada com o comprimento do corpo do organismo, no entanto, indivíduos com mais de 10 cm de comprimento podem ser encontrados nas primeiras camadas de sedimento entre os 2 e 3 cm de profundidade (Anderson & Meadows, 1978; Esselink & Zwarts, 1989; Davey & Partridge, 1998). Esta espécie pode apresentar diversas formas de alimentação dependendo do nível de emersão no sedimento (Fernandes *et al.*, 2006). Assim, adopta um modo de alimentação depositívoro na maré baixa (Masson *et al.*, 1995), e uma actividade filtradora na maré alta (Smith *et al.*, 1996; Vedel, 1998). A opção de actividade filtradora está relacionada com uma estratégia de defesa em relação aos predadores (peixes, camarões, caranguejos) nos períodos de emersão (Riisgard, 1991).

Capítulo III – Material e Métodos

1 DESCONTAMINAÇÃO DO MATERIAL DE LABORATÓRIO

Todo o material laboratorial utilizado na realização deste trabalho foi previamente descontaminado em solução ácida (Kramer *et al.*, 1994) através dos seguintes passos: (1) lavagem com água desmineralizada (18.2 MΩ cm), (2) colocação numa solução de ácido nítrico pro-análise (HNO₃ pa, 65% v/v) durante 48 horas, (3) lavagem com água desmineralizada e (4) secagem numa câmara de fluxo laminar no interior de uma sala de ambiente controlado, de modo a minimizar a contaminação por deposição de partículas.

2 AMOSTRAGEM

Para o estudo do efeito das plantas na química dos sedimentos foram recolhidos cores de sedimento sem vegetação e de sedimento colonizado com *S. fruticosa* e *S. maritima*. Esta colheita foi realizada em Setembro de 2004 com um amostrador tubular que permite a recolha de sedimentos minimizando a sua compressão (Figura 7). Esta técnica de recolha é adoptada para estudos de sedimentos em profundidade porque não provoca perturbações significantes nas condições originais do sedimento e também porque é de fácil manuseamento (Bufflap & Allen, 1995). Foi colhida também a parte aérea das plantas (folhas e caules).



Figura 7– Core de sedimento com vegetação no sapal do Rosário.

Os cores de sedimento foram seccionados no local. O core de sedimento sem vegetação foi seccionado em camadas com 2 cm de espessura até à profundidade de 20 cm e com 5 cm até à base (57 cm). Para os cores de sedimento colonizado seccionou-se os primeiros 30 cm (camada com raízes) em camadas de 2 cm e de 5 cm até à base dos cores (123 cm para o core colonizado por *S. fruticosa* e 130 cm para o colonizado por *S. maritima*). As amostras foram guardadas em sacos de plástico e transportadas para o laboratório em arcas refrigeradoras, sendo conservadas a +4°C (máximo de 3 dias) até pré-tratamento.

3 ENSAIO LABORATORIAL

De modo a estudar o efeito da bioturbação por poliquetas na distribuição de metais no sedimento e transporte de partículas, concebeu-se um ensaio laboratorial com base no descrito em Petersen *et al.*, (1998). Utilizaram-se tubos de acrílico transparente com cerca de 60 cm de comprimento e 11 cm de diâmetro interno. Com base em diversos estudos de contaminação no estuário do Tejo (Caçador *et al.*, 1996a,b, 2000a, b, 2004; Caçador & Vale, 2001; Sundby *et al.*, 1998, 2003, 2005; Vale *et al.*, 2003; Caetano & Vale, 2002; Caetano *et al.*, 2007a, b) colocou-se uma camada superficial de 5 cm de espessura de sedimento contaminado sobre uma camada de 20 cm de sedimento menos contaminado (Figura 8). O sedimento utilizado foi crivado por um peneiro de 1000 μm para remover a macrofauna e partículas de maiores dimensões. A avaliação do grau de contaminação foi efectuada com base no estudo de Sundby *et al.* (2005).

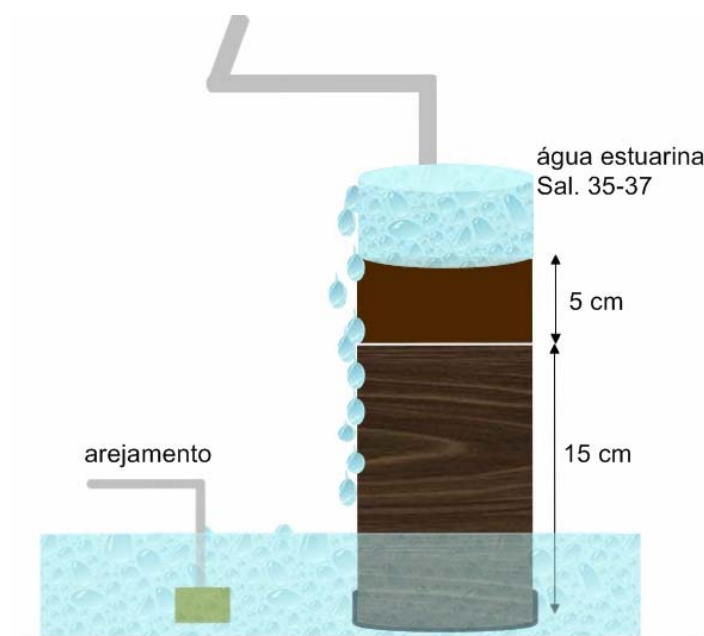


Figura 8 – Representação esquemática dos cores num tanque do ensaio laboratorial.

Os tubos foram preenchidos com água estuarina (salinidade=35-37) mantida em circulação num circuito contínuo de tanques com 70 dm³ que permitiu manter a saturação de O₂ (Figura 9). Após estabelecer as condições iniciais o sistema deixou-se a estabilizar durante 4 dias. A parte exterior do core que continha sedimento foi coberta por manga de plástico preta para a impedir a penetração de luz. A base dos cores foi hermeticamente selada para não permitir a penetração de água da base dos cores para a superfície. O ensaio laboratorial ficou sujeito ao ciclo de luz diário.



Figura 9 – Esquema experimental do ensaio laboratorial.

Os poliquetas *Nereis diversicolor* foram depurados durante 5 dias em água salina (35 de salinidade) antes de serem introduzidos nos cores. A depuração foi efectuada para diminuir a quantidade de sedimento no interior dos organismos bentónicos e minimizar a contaminação do ensaio laboratorial com outro sedimento.

A densidade de poliquetas encontrada no meio natural varia entre 430 ind m⁻² e 16000 ind m⁻² (Fidalgo e Costa *et al.*, 1998). Em cada core introduziu-se uma densidade de 1263 ind m⁻² (Tabela 1). Foram utilizados 3 cores replicados: P₁, P₂ e P₃ para colocação de organismos bentónicos, e outros 2 cores de sedimento para controlo (C₁ e C₂). O ensaio laboratorial decorreu durante 31 dias e a salinidade e temperatura foram praticamente constantes ao longo do tempo (35–35.5 e 13–14°C, respectivamente).

Tabela 1 – Parâmetros experimentais usados para o ensaio laboratorial.

Poliquetas	<i>Nereis diversicolor</i>
Organismos adicionados (por core)	12
Densidade (ind. m ⁻²)	1263
Peso individual dos poliquetas (mg)	370 – 840
Duração da experiência (dias)	31

No final do ensaio laboratorial a água sobrenadante dos cores foi retirada de modo a minimizar a ressuspensão do sedimento. Os cores foram seccionados nas seguintes camadas: de 1cm de espessura entre a superfície e os 17 cm e de 2 cm até à base do core. Todas as camadas foram acondicionadas em sacos de plástico. Foram retirados os organismos de cada camada de sedimento. O sedimento foi seco numa estufa a 40°C até peso constante, moído em almofariz de ágata e homogeneizado para posteriores análises.

4 PREPARAÇÃO E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

4.1 BIOMASSA SUBTERRÂNEA

Cada camada de sedimento dos cores de *S. fruticosa* e *S. maritima* foi pesada, retirada uma porção de sedimento para determinar o teor em água e lavado o remanescente num crivo com malha de 212 µm com o auxílio de um jacto de água moderado para separar as partes vegetais do sedimento. O sedimento foi recolhido em frascos de polietileno de baixa densidade (LDPE) e seco numa estufa a 40°C. O mesmo procedimento foi efectuado para as raízes. A determinação da biomassa subterrânea foi efectuada através da seguinte equação:

$$\%B = \left(\frac{P_{\text{raiz seco}}}{P_{\text{total seco}}} \right) \cdot 100 \quad (i)$$

onde $P_{\text{raiz seco}}$ é o peso seco da raiz e $P_{\text{total seco}}$ é o peso total seco, (raiz e sedimento), em gramas.

Para a quantificação dos teores de metais pesados e de isótopos estáveis de chumbo (Pb), o material radicular separado do sedimento foi homogeneizado e moído em almofariz de ágata.

4.2 BIOMASSA AÉREA

A biomassa aérea das plantas foi separada em tecidos fotossintéticos e não fotossintéticos. A *Sarcocornia fruticosa* não tem um sistema aéreo com folhas e caules. Nesta planta, os caules verdes - fotossintéticos (referidos como folhas) foram separados dos caules perenes secos (que serão referidos como caules). Um procedimento semelhante foi aplicado para a *Spartina maritima*, onde os ramos foram divididos em folhas e em tecidos não fotossintéticos (que serão referidos como caules). Os caules e folhas das plantas foram recolhidos no local de amostragem. Os caules foram cortados junto ao solo. Depois de recolhido o material vegetal foi colocado dentro de sacos de polietileno para o transporte. No laboratório procedeu-se à sua lavagem com água desmineralizada para remover as partículas de sedimento que se encontrassem depositadas na superfície das folhas e caules. As folhas foram separadas dos

caules e secas numa estufa, a cerca de 40°C até peso constante, reduzidas a um pó fino utilizando almofarizes de ágata e homogeneizadas para posteriores análises.

4.3 SEDIMENTO

O sedimento obtido após a separação da biomassa vegetal subterrânea foi seco numa estufa a 40°C até peso constante. Relativamente às camadas de sedimento não colonizado, estas foram também secas numa estufa a 40°C até peso constante. Os sedimentos foram moídos num almofariz de ágata e homogeneizados para posteriores análises.

4.4 HUMIDADE TOTAL DO SEDIMENTO

A determinação do teor de humidade no sedimento foi realizada em cerca de 1 g de sedimento, em cadinhos de porcelana a 105°C, até peso constante. O teor de humidade foi determinado pela perda de peso e o seu valor expresso em percentagem, conforme a equação:

$$\%H = 100 - \left(\frac{P_{\text{raiz seco (105°)}}}{P_{\text{sed. húmido}}} \right) \cdot 100 \quad (\text{ii})$$

onde $P_{\text{raiz seco (105°)}}$ e $P_{\text{sed. húmido}}$ representam o peso do sedimento seco a 105°C e o peso do sedimento húmido, em gramas.

4.5 MATÉRIA ORGÂNICA SEDIMENTAR

Para a determinação da matéria orgânica sedimentar em cada camada de sedimento utilizou-se cerca de 1 g de material sedimentar seco que foi submetido a 450°C durante 2 horas, visto que a esta temperatura não ocorre a destruição dos carbonatos (Williams, 1985, Craft *et al.*, 1991). Os sedimentos foram retirados da mufla e colocados num excicador onde permaneceram até atingirem um peso constante. O conteúdo em matéria orgânica foi determinado por diferença de peso do sedimento antes e após o aquecimento.

4.6 METAIS (ALUMÍNIO, ZINCO, COBRE, CÁDMIO E CHUMBO) E ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CHUMBO

As amostras de sedimento seco (± 100 mg), foram mineralizadas com 6 ml de ácido fluorídrico (HF - 40% v/v) e 1 ml de Água Régia (ácido clorídrico HCl - 36% v/v: ácido nítrico HNO₃ - 60% v/v, numa proporção de 3:1) em bombas de Teflon fechadas. Estas foram colocadas na estufa a 100 °C durante 1h. Posteriormente, o conteúdo das bombas foi transferido para tubos de Teflon e evaporado até à secura num HotBlock (DigiPrep HotBlock – SCP Science). Adicionou-se depois 1 ml de HNO₃ bidestilado e 5 mL de água

desmineralizada e aqueceu-se a mistura durante 20 minutos a 75°C. Esta mistura foi aferida a 50 ml com água desmineralizada (Caetano *et al.*, 2007a).

As amostras de material biológico ($\pm 200\text{mg}$) foram digeridas com uma mistura de ácido nítrico (HNO_3 - 60% v/v) e peróxido de hidrogénio (H_2O_2 - 30% v/v) em bombas de Teflon abertas, a 60°C durante 12 horas e a 100°C durante 1 hora com as bombas fechadas. O extracto obtido foi aferido com água desmineralizada a 25 ml. Foram preparados brancos usando as metodologias e reagentes utilizados em cada procedimento. Foram também digeridos materiais de referência certificados (5 para a análise de sedimentos e 2 para a análise de plantas) utilizando a mesma metodologia analítica que para as amostras e 3 brancos de modo a garantir o controlo de qualidade analítico. A determinação de Al e Zn foi efectuada por espectrometria de absorção atómica com atomização na chama (*Perkin Elmer AAnalyst 100*) com as condições experimentais previamente optimizadas (Tabela 2).

Tabela 2 – Condições experimentais utilizadas na detecção de Al e Zn por AAS-Flame.

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Fenda (nm)	Oxidante/Combustível	Chama	Razão do fluxo de gases
Al	309.3	0.7	NO_2 /Acetileno	Oxidante	4/2
Zn	213.9	0.7	Ar/Acetileno	Redutora	4/2

As concentrações destes metais foram calculadas através do método de adição padrão utilizando soluções Tritisol (Merck) de cloreto de alumínio (AlCl_3) e cloreto de zinco (ZnCl_2).

A determinação dos metais minoritários, Cu, Cd e Pb assim como dos isótopos estáveis de Pb (^{206}Pb , ^{207}Pb e ^{208}Pb) foi efectuada por ICP-MS com quadrupolo (*Thermo Elemental - série X*) equipado com uma câmara de nebulização de vidro Peltier e um nebulizador concêntrico Meinhard. Os parâmetros experimentais utilizados para estas determinações estão indicados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros experimentais para a determinação de Cu, Cd, Pb e isótopos de Pb por ICP-MS.

Parâmetros de ICP-MS	Metais Cu, Cd e Pb	Isótopos de Pb
RF power (W)	1400	1400
Acquisition mode	Peak jumping	Peak jumping
Sweeps per replicate	150	500
Acquisition time (s)	24	79
Channels per mass	1	3
Dwell time (μs)	10	10
Dead time (ns)	50	50
Neb. (lmin^{-1})	0.86	0.88
Cool. (lmin^{-1})	13	13
Aux. (lmin^{-1})	0.90	0.90
Uptake time (s)	40	40
Washout time (s)	60	60

A quantificação do total de metais foi efectuada por curva de calibração com 7 pontos num intervalo de concentrações de 1 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.

5 CONTROLO DE QUALIDADE ANALÍTICO

A exactidão dos resultados obtidos foi verificada através da análise de materiais de referência certificados (MRC's), nas mesmas condições utilizadas para as amostras. Foram analisados MRC's de sedimentos marinhos (MESS-3, BCSS-1 e MAG-1) de sedimento estuarino (1646a) de rochas (AGV-1) e de matriz biológica (BCR-60 planta aquática-*Lagarosiphon major* e BCR-61 musgo aquático-*Platihypnidium riparioides*). A Tabela 4 e Tabela 5 apresentam a média e o desvio padrão das concentrações de Al, Zn, Cu, Cd e Pb obtidas (n=5) e certificadas de cada MRC.

Tabela 4 – Média e desvio padrão das concentrações de Al (%) e Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) certificadas e obtidas, nos padrões de sedimento MESS-3; BCSS-1, MAG-1, 1646a e AGV-1.

		MESS-3	BCSS-1	MAG-1	1646a	AGV-1
Al (%)	Certificado ¹	8.59±0.23	6.26±0.217	8.68±0.16	2.297±0.018	9.08±0.18
	Obtido	9.1±0.46	6.7±0.68	9.3±0.88	2.4±0.80	9.5±0.75
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	159±8	119±12	130±6	48.9±1.6	88±9
	Obtido	147±5.0	110±8.0	123±7.0	46±2.0	85±5.0
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	33.9±1.6	18.5±2.7	30±3	10.01±0.34	60±6
	Obtido	36±4.9	22.8±4.1	31.6±4.3	11.7±1.3	68.1±7.9
Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	0.24±0.01	0.25±0.04	0.20±0.03	0.148±0.007	0.069
	Obtido	0.28±0.08	0.28±0.05	0.22±0.04	0.136±0.03	--
Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	21.1±0.7	22.7±3.4	24±3	11.7±1.2	36±5
	Obtido	20±0.91	21±0.95	26±2.9	11±1.6	34±1.6

¹ Valores fornecidos (NRCC, 1987; Flanagan, 1973)

Tabela 5 – Média e desvio padrão das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) certificadas e obtidas nos padrões de plantas BCR-60 e BCR-61.

		BCR-60	BCR-61
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	313±8	566±13
	Obtido	307±30	563±94
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	51.2±1.9	720±31
	Obtido	52±6.5	639±113
Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	2.20±0.10	1.07±0.08
	Obtido	1.9±0.13	0.95±0.036
Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Certificado ¹	63.8±3.2	64.4±3.5
	Obtido	57±1.1	56±1.2

¹ Valores fornecidos (NRCC, 1987; Flanagan, 1973)

As concentrações obtidas para os vários metais encontram-se dentro do intervalo de variação certificado considerando-se, por isso, que as metodologias utilizadas foram adequadas. Para a análise dos metais Cu, Cd e Pb, por ICP-MS, usou-se o índio (In) como padrão interno e uma solução de controlo de qualidade de 5.1970 µg L⁻¹. O valor da precisão das medições das concentrações de Cu, Cd e Pb foi obtido através do desvio padrão relativo e apresentou valores entre 1-4% para os sedimentos e 2-5% para as plantas. Esta variação foi verificada para todos os metais.

5.1 LIMITE DE DETECÇÃO E ERRO DE PRECISÃO

O limite de detecção de um método define-se como a menor concentração de analito capaz de produzir um sinal diferente do sinal do branco (Thomsen *et al.*, 2003). Para a sua determinação realizaram-se 20 leituras consecutivas de uma amostra efectuando-se o cálculo de acordo com a seguinte equação:

$$LD = \sigma \cdot t_{(n-1)} \quad (\text{iii})$$

onde σ é o desvio padrão das leituras e $t_{(n-1)}$ corresponde ao parâmetro *t*-student para *n*-1 graus de liberdade e um grau de confiança de 95% ($p < 0.05$) (Gonçalves, 1990). Os limites de detecção obtidos nas análises de sedimentos foram 0.20% para o Al e 4.0 µg g⁻¹, 0.56 µg g⁻¹, 0.015 µg g⁻¹ e 0.94 µg g⁻¹ para o Zn, Cu, Cd e Pb, respectivamente. Para as análises de plantas os limites de detecção obtidos foram 30 µg g⁻¹, 0.016 µg g⁻¹, 0.0037 µg g⁻¹ e 0.004 µg g⁻¹ para o Zn, Cu, Cd e Pb, respectivamente. O erro de precisão (\mathcal{E}) do método foi determinado através da equação:

$$\mathcal{E} = 100 \cdot \left(\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right) \cdot \left(\frac{t_{(n-1)}}{\bar{x}} \right) \quad (\text{iv})$$

onde \bar{x} representa a média aritmética das 20 leituras consecutivas.

Os erros de precisão do método obtidos nas análises de sedimentos foram 1.3%, 1.0%, 0.30%, 0.40% e 0.70% para o Al, Zn, Cu, Cd e Pb, respectivamente. Para as análises de plantas os erros de precisão obtidos foram 1.4%, 3.1%, 1.3%, 1.2% e 0.70% para o Al, Zn, Cu, Cd e Pb, respectivamente.

Nas determinações por ICP-MS os brancos apresentaram contagens inferiores a 1% do valor obtido nas amostras. Para a determinação das razões isotópicas de Pb foram efectuadas correcções para o fraccionamento mássico de duas em duas amostras, utilizando o material de referência NIST SRM 981. A composição isotópica dos brancos processuais não influencia significativamente as razões isotópicas de Pb, medidas tanto nas amostras de sedimentos como nas plantas. O coeficiente de variação do material de referência NIST SRM 981 obtido através de um controlo de qualidade externo, entre grupos de amostras, foi 0.37% para a razão ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb e 0.22% para a razão ²⁰⁶Pb/²⁰⁸Pb.

Capítulo IV – Resultados e Discussão

Parte I – Influência das Plantas no Sedimento

A bioturbação do sedimento pelas plantas foi estudada em cores de sedimento colhidos no sapal do Rosário. As amostras foram processadas de acordo com os objectivos pretendidos, tendo-se determinado parâmetros físicos, químicos e biológicos.

1 BIOMASSA SUBTERRÂNEA

A Figura 10 apresenta a variação da biomassa subterrânea (B) nas plantas *Sarcoconia fruticosa* e *Spartina maritima* no sapal do Rosário.

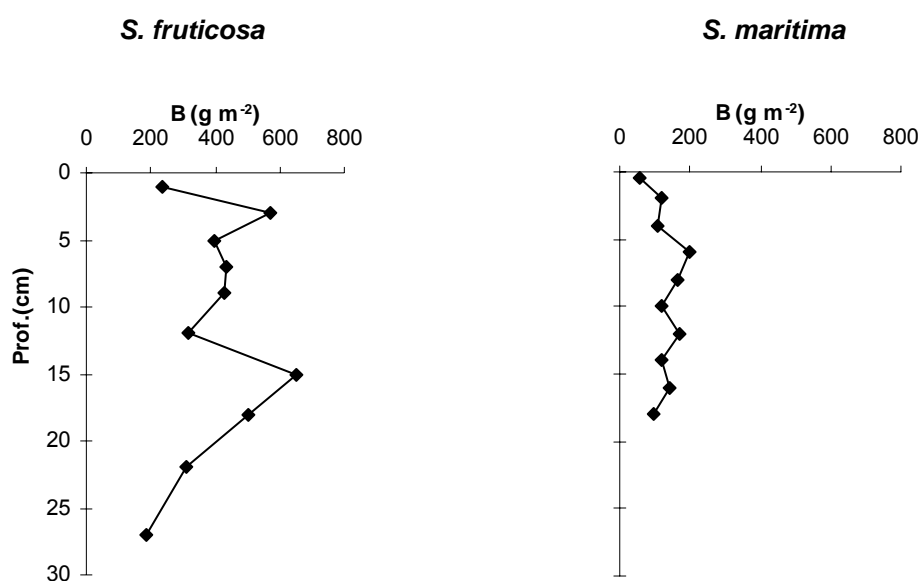


Figura 10 – Perfis de biomassa subterrânea em sedimentos vegetados pelas plantas *S. fruticosa* e *S. maritima* do Sapal do Rosário.

Os perfis de biomassa foram irregulares observando-se valores superiores para a *S. fruticosa* e também maior penetração das raízes desta planta. O valor de biomassa mais elevado foi encontrado aos 15 cm de profundidade (648 g m⁻², peso seco). Nos sedimentos colonizados por *S. maritima* o máximo foi encontrado a 6 cm (201 g m⁻², peso seco), diminuindo até aos 20 cm de profundidade. Esta diferença, que reflecte usualmente respostas adaptativas ao ambiente (Groenendijk & Vink-Lieavaart, 1987), sugere uma intensa competição para captar os nutrientes.

Os valores de biomassa no sapal do Rosário são inferiores quando comparados com valores registados por outros autores, para as mesmas espécies noutros sapais portugueses e europeus. Por exemplo, Caçador *et al.*, (1999), registaram 2577 g m⁻² e 3634 g m⁻², peso seco, para a *S. fruticosa* e 1375 g m⁻² e 4445 g m⁻², peso seco, para a *S. maritima*, respectivamente nos sapais de Pancas e Corroios, do estuário do Tejo. Para a *S. maritima*, Benito & Onaindia (1991) registaram 425 g m⁻², peso seco, em sapais da costa Cantábrica

(Baía de Biscaia, norte de Espanha). Estas diferenças são devidas a variações sazonais visto a biomassa ser um parâmetro que varia mensalmente e, também, com factores como a elevação, a salinidade, a disponibilidade de nutrientes e a oxigenação da zona do sistema radicular visto serem factores importantes para a produção de biomassa (Lana *et al.*, 1991).

2 HUMIDADE E MATÉRIA ORGÂNICA SEDIMENTAR

Os perfis verticais da percentagem de humidade (H) e matéria orgânica sedimentar (MO) nos sedimentos não vegetados e nos vegetados por *S. fruticosa* e *S. maritima* são apresentados na Figura 11.

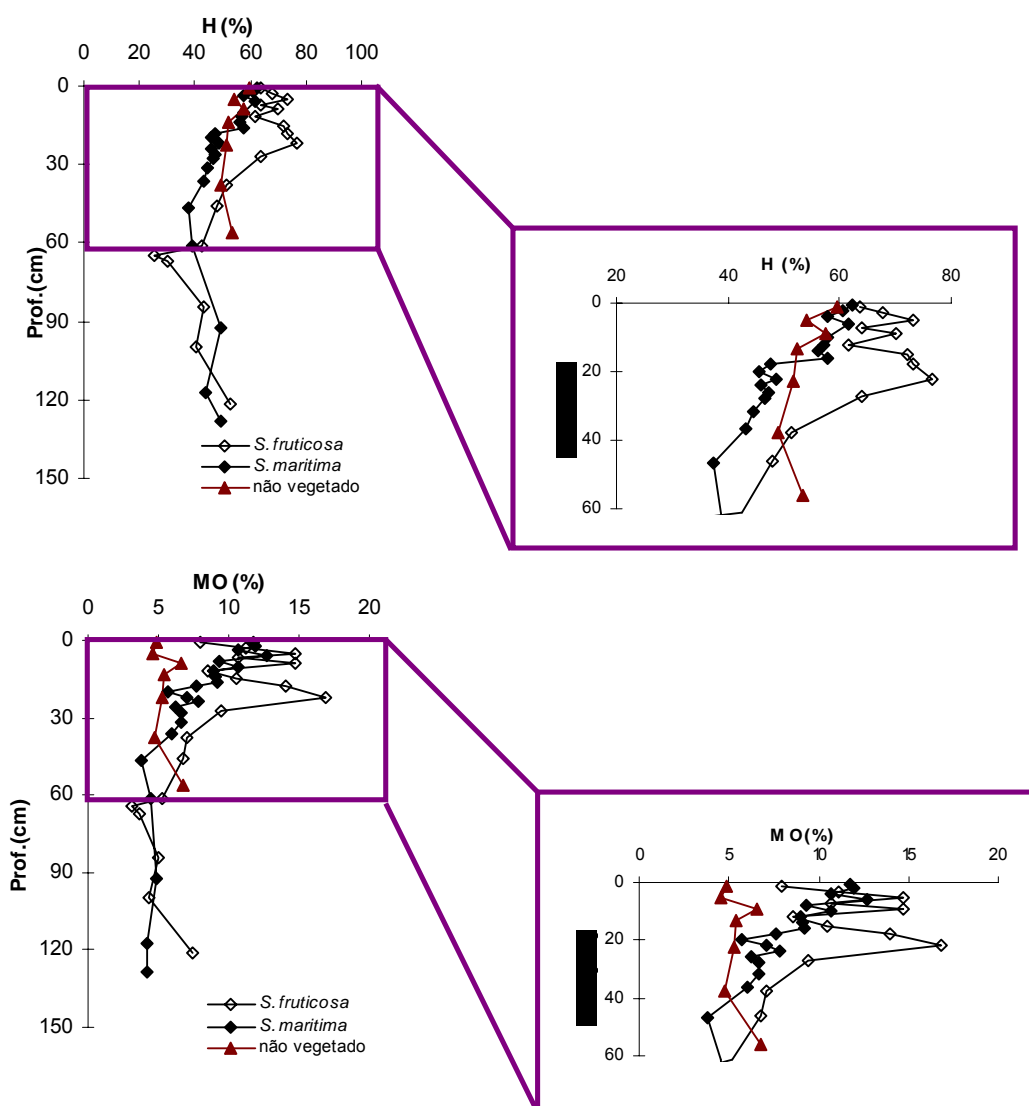


Figura 11 – Perfis verticais da percentagem de humidade e matéria orgânica sedimentar (MO) nos sedimentos não vegetados e colonizados com *S. fruticosa* e *S. marítima* do Sapal do Rosário.

As camadas superficiais de sedimentos (0-30 cm) colonizados com *S. fruticosa* apresentaram teores mais elevados de humidade (64-77%). Abaixo desta profundidade a percentagem de humidade diminuiu gradualmente até aos 65 cm de profundidade (25%) aumentando

ligeiramente até à base do core. Nos sedimentos não vegetados os valores de humidade foram inferiores aos registados nos vegetados por *S. fruticosa*, mas similares aos vegetados por *S. maritima*.

O conteúdo em matéria orgânica nos sedimentos não vegetados foi relativamente constante em profundidade (4.9-6.6%). Contrariamente, nos sedimentos colonizados as camadas com biomassa subterrânea registaram maiores conteúdos em matéria orgânica, resultando provavelmente da decomposição do sistema radicular e da consequente incorporação da matéria orgânica nos sedimentos (Tinker & Barraclough, 1988). A variação de MO foi similar para ambas as plantas tendo o sedimento colonizado por *S. fruticosa* apresentado teores mais elevados.

3 NÍVEIS DE METAIS EM SEDIMENTOS NÃO VEGETADOS

As concentrações de Al apresentaram uma pequena variabilidade em profundidade (11-12%). As concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb foram normalizadas para o Al de modo a minimizar as diferenças associadas a alterações de granulometria dos sedimentos (Windom *et al.*, 1989). A Figura 12 apresenta os perfis verticais das razões metal/Al nos sedimentos sem vegetação.

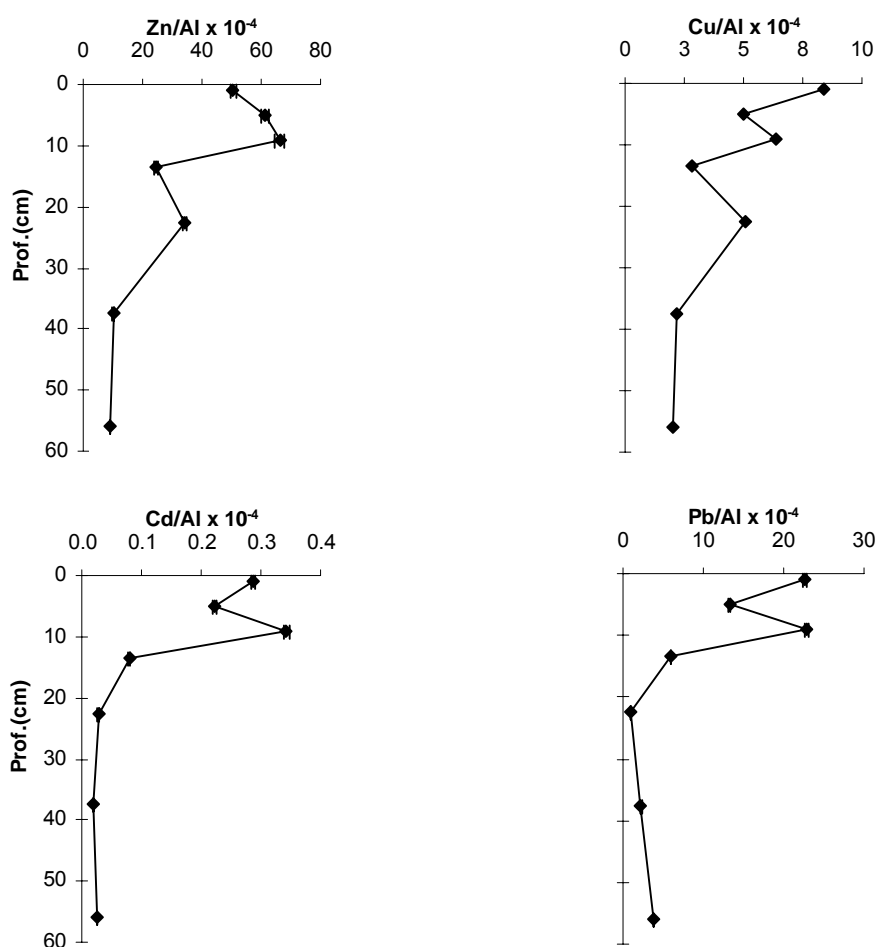


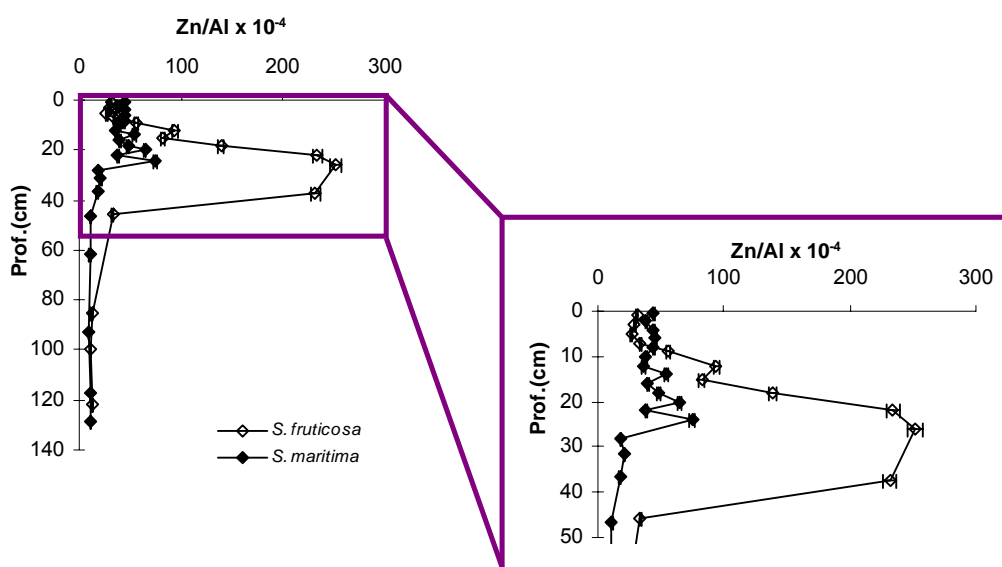
Figura 12 - Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al em sedimentos não vegetados do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.

A variação das razões metal/Al em profundidade mostrou um aumento nas camadas mais superficiais do sedimento. Este aumento foi mais significativo para a razão Cd/Al em que na camada superficial do sedimento (0-1 cm) se observou um enriquecimento de 11 vezes relativamente à base do core. O incremento observado para o Cd reflecte a contaminação dos sedimentos devido a descargas industriais e urbanas (Vale, 1990; Caçador *et al.*, 1996a). A diferença do gradiente de concentração, em termos de factores de enriquecimento, observada para o Cu (4.2), para o Zn (5.5) e para o Pb (6.0) relativamente ao Cd sugere que estes metais difundem a maiores profundidades formando compostos estáveis insolúveis em diversas camadas (Shaw *et al.*, 1990). Assumindo que a velocidade de sedimentação varia entre 0.6 e 0.8 cm ano⁻¹ neste sapal (Vale, 1990; Caçador *et al.*, 1996a) o enriquecimento de metais na superfície corresponde à contaminação durante as 3 últimas décadas. A mobilidade dos metais devido a processos diagenéticos de retenção/solubilização entre as zonas óxica e anóxica (Shaw *et al.*, 1990) foi considerada minoritária relativamente à contaminação.

4 NÍVEIS DE METAIS EM SEDIMENTOS VEGETADOS

Pelo facto da maioria dos sapais serem ecossistemas contaminados por metais, é necessário um bom conhecimento acerca das influências de diferentes espécies de plantas na retenção destes, visto que a actividade das plantas de sapal está fortemente relacionada com as velocidades de retenção dos metais (Windham *et al.*, 2003).

Os perfis verticais das razões metal/Al nos sedimentos vegetados por *S. fruticosa* e *S. maritima* estão apresentados na Figura 13. Da mesma forma que o efectuado para os sedimentos não vegetados, também as concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb nos sedimentos vegetados foram normalizadas para o Al, o qual apresentou pouca variabilidade em profundidade (9 – 13%).



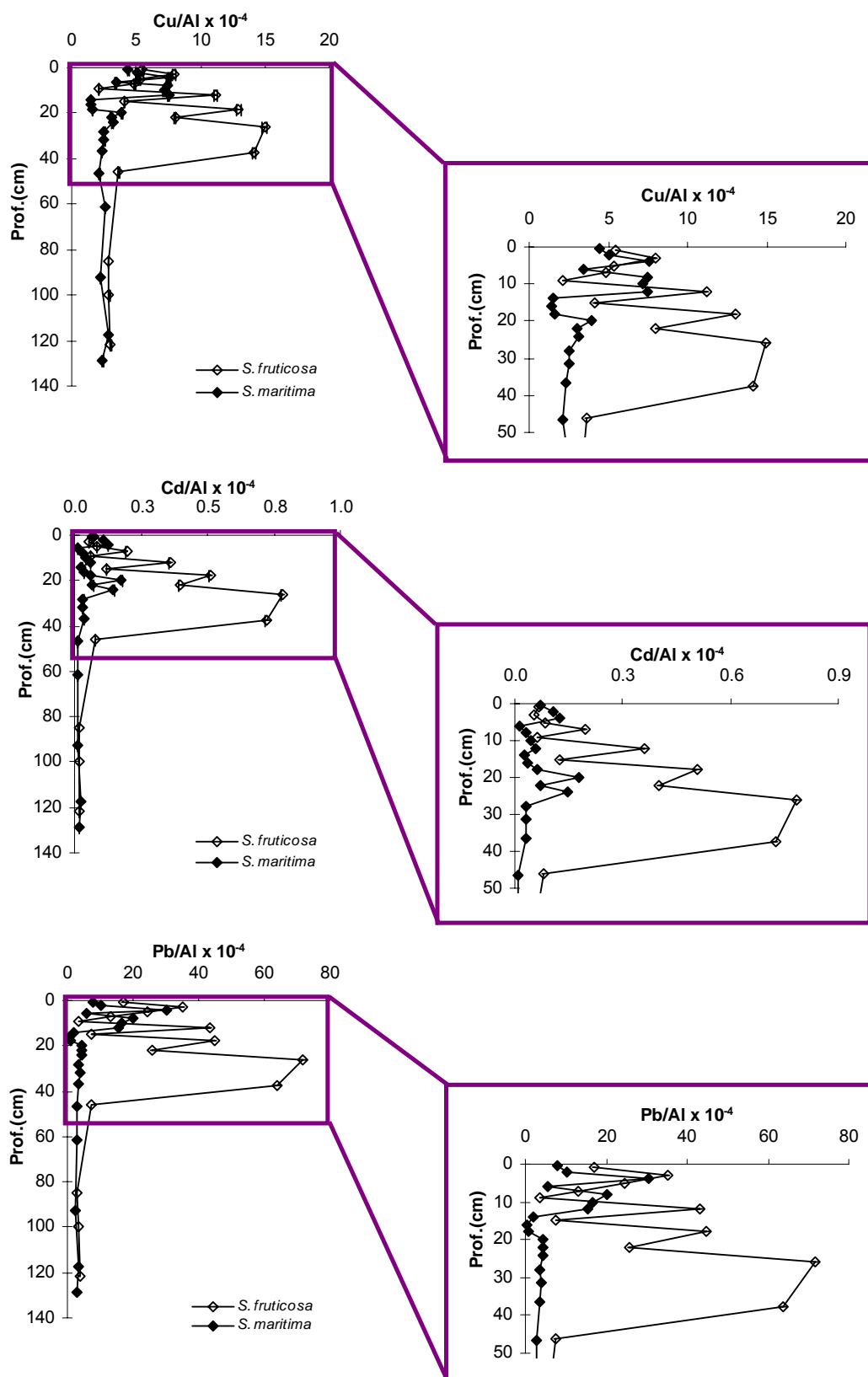


Figura 13 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al em sedimentos vegetados por *S. maritima* e *S. fruticosa* do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para n=5.

Os perfis verticais mostram que as razões metal/Al foram mais elevadas no sedimento colonizado por *S. fruticosa*. Em todos estes perfis foi observado um máximo entre os 22 e os 50 cm de profundidade. A maiores profundidades as razões metal/Al apresentaram valores relativamente constantes e indistintos entre as zonas colonizadas pelas duas plantas. No sedimento colonizado por *S. maritima* os máximos de Zn/Al, Cd/Al e Pb/Al foram menos acentuados, não sendo evidente enriquecimento de Cu nestes sedimentos.

O máximo de Zn, Cu, Cd e Pb nos sedimentos colonizados por *S. fruticosa* e *S. maritima* foi registado abaixo do enriquecimento observado para os sedimentos não vegetados. Esta diferença resulta provavelmente da elevada taxa de sedimentação nas zonas de sapal com estas plantas (Caçador *et al.*, 1996a). No entanto, as razões metal/Al foram mais elevadas no sedimento sem vegetação (camadas superficiais), apenas para o caso do Zn e do Cd. Estes resultados sugerem que as interações entre as raízes e os sedimentos mobilizam os metais entre a fracção intersticial e a sólida atenuando o sinal de contaminação mas distribuindo os metais ao longo da zona com raízes. O facto do máximo das razões metal/Al se prolongar abaixo da zona das raízes sugere que há uma difusão para camadas mais profundas e consequente retenção na fase sólida. Outra hipótese para este resultado será o facto do sedimento preservar o registo da contaminação durante o crescimento do sapal. A diferença entre plantas resulta da maior área específica que as raízes da *S. fruticosa* têm relativamente à *S. maritima*. Quanto maior a área específica, mais intensa será a interacção entre a raiz e o sedimento e consequentemente maior o sinal de cada metal. Salienta-se, que estes perfis verticais podem variar sazonalmente com a biomassa subterrânea, penetração das raízes no sedimento e o fraccionamento de metal (Jacob & Otte, 2003; Weis & Weis, 2004). Deste modo, podemos inferir que a grande dinâmica no ciclo dos metais no sedimento vegetado limita a utilização de perfis verticais dos metais em sedimentos de sapal para registo histórico da poluição.

Considerando que as diferenças encontradas entre os sedimentos não vegetados e os vegetados por *S. fruticosa* e *S. maritima*, são exclusivamente induzidas pela actividade das plantas, significa que ocorre mobilidade dos metais para outras camadas de sedimento ou então estes são tomados pelas raízes. Esta hipótese foi verificada por outros trabalhos realizados previamente no estuário do Tejo, os quais mostraram a mobilidade de diversos elementos, numa escala milimétrica, em torno das raízes da planta *Halimione portulacoides* (Caetano & Vale, 2002; Vale *et al.*, 2003) e a acumulação nos sedimentos colonizados e nas raízes (Caçador *et al.*, 1996a, 2000; Sundby *et al.*, 2005), dependendo das condições ambientais

existentes em cada sapal (Caçador *et al.*, 1996a,b; Doyle & Otte, 1997; Almeida *et al.*, 2006).

5 TEORES DE METAIS NAS FOLHAS, CAULES E BIOMASSA SUBTERRÂNEA

As concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb nas folhas, caules e na biomassa subterrânea das plantas *S. fruticosa* e *S. maritima* são apresentadas na Tabela 6. Para a análise das folhas e caules foram efectuadas amostras compostas e a biomassa subterrânea foi analisada em profundidade.

Tabela 6 – Concentrações médias e desvios padrões de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas folhas, caules e range dos teores na biomassa subterrânea das plantas *S. fruticosa* e *S. maritima* do Sapal do Rosário.

	<i>S. fruticosa</i>			<i>S. maritima</i>		
	Folhas	Caules	Biomassa subterrânea	Folhas	Caules	Biomassa subterrânea
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	28±1.2	61±2.6	320-11017	21±0.90	17±0.73	743-4125
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	3.7±0.024	2.5±0.007	141-355	3.8±0.049	2.5±0.13	48-287
Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0.010±0.0002	0.030±0.0006	8.6-38	0.027±0.001	0.021±0.0003	2.5-28
Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1.7±0.013	1.3±0.018	286-2870	1.4±0.011	1.1±0.053	126-1755

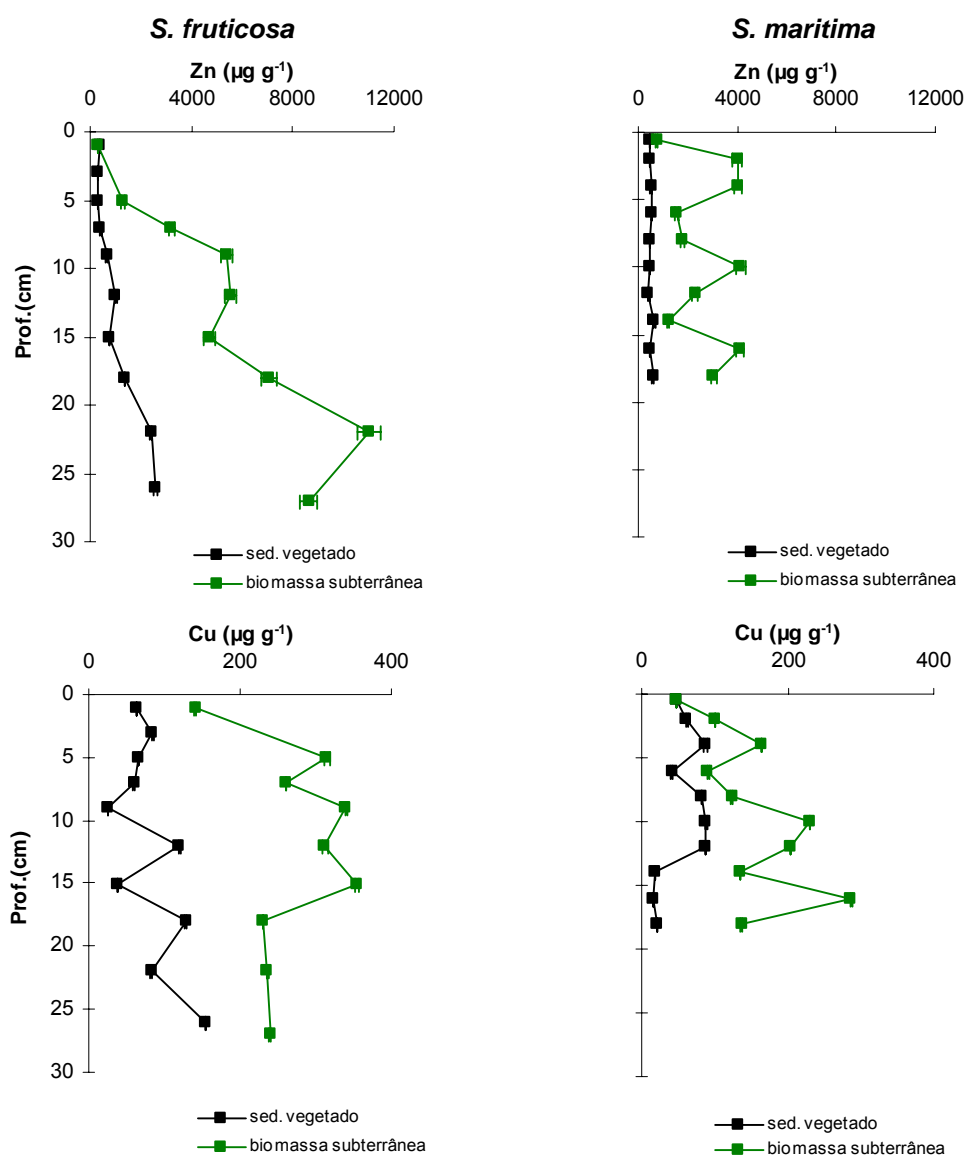
As concentrações de metais na biomassa subterrânea foram 1 a 3 ordens de grandeza superiores às registadas na parte aérea das plantas estudadas, sendo a maior diferença encontrada para o Cd (3800 vezes) na *S. fruticosa*. Diferenças notórias foram também encontradas na partição de Pb entre a biomassa subterrânea de ambas as plantas (2208 vezes para a *S. fruticosa* e 1595 para a *S. maritima*) e a biomassa aérea. Para a *S. maritima* os níveis de Zn, Cu, Cd e Pb foram comparáveis entre as folhas e os caules. O mesmo padrão foi observado para a *S. fruticosa*. Esta similaridade sugere que não há acumulação preferencial de metais nos diferentes tecidos da parte aérea das plantas.

A diferença de acumulação de metais entre a parte aérea e a subterrânea sugere que nesta última são preferencialmente retidos estes contaminantes. Este resultado sugere que o transporte de metais das raízes para a biomassa aérea parece ser reduzido, o que foi também demonstrado por Windham *et al.*, (2003) para as plantas de sapal *Spartina alterniflora* e *Phragmites australis*. Estudos realizados por estes autores mostraram que os tecidos fotossintéticos destas plantas podem libertar metais, regulando a sua concentração. Estes factos estão de acordo com diversos trabalhos efectuados em plantas de zonas de sapal que mostram que a acumulação de metais pelas macrófitas ocorre essencialmente nas suas raízes (Caçador *et al.*, 1996a,b; Weis *et al.*, 2002; Fitzgerald *et al.*, 2003; MacFarlane *et al.*, 2003; Weis & Weis, 2004; Vardanyan & Ingole, 2006).

Os teores de metais encontrados nas diversas partes das plantas *S. fruticosa* e *S. maritima* estão em conformidade com valores registados em outros sapais do estuário do Tejo (Caçador *et al.*, 1996a, b, 2000b; Caçador & Vale, 2001).

6 METAIS NA BIOMASSA SUBTERRÂNEA DAS PLANTAS DE SAPAL

A Figura 14 apresenta os perfis verticais da concentração de Zn, Cu, Cd e Pb nos sedimentos colonizados por *S. fruticosa* e *S. maritima* e na biomassa subterrânea correspondente a cada camada de sedimento.



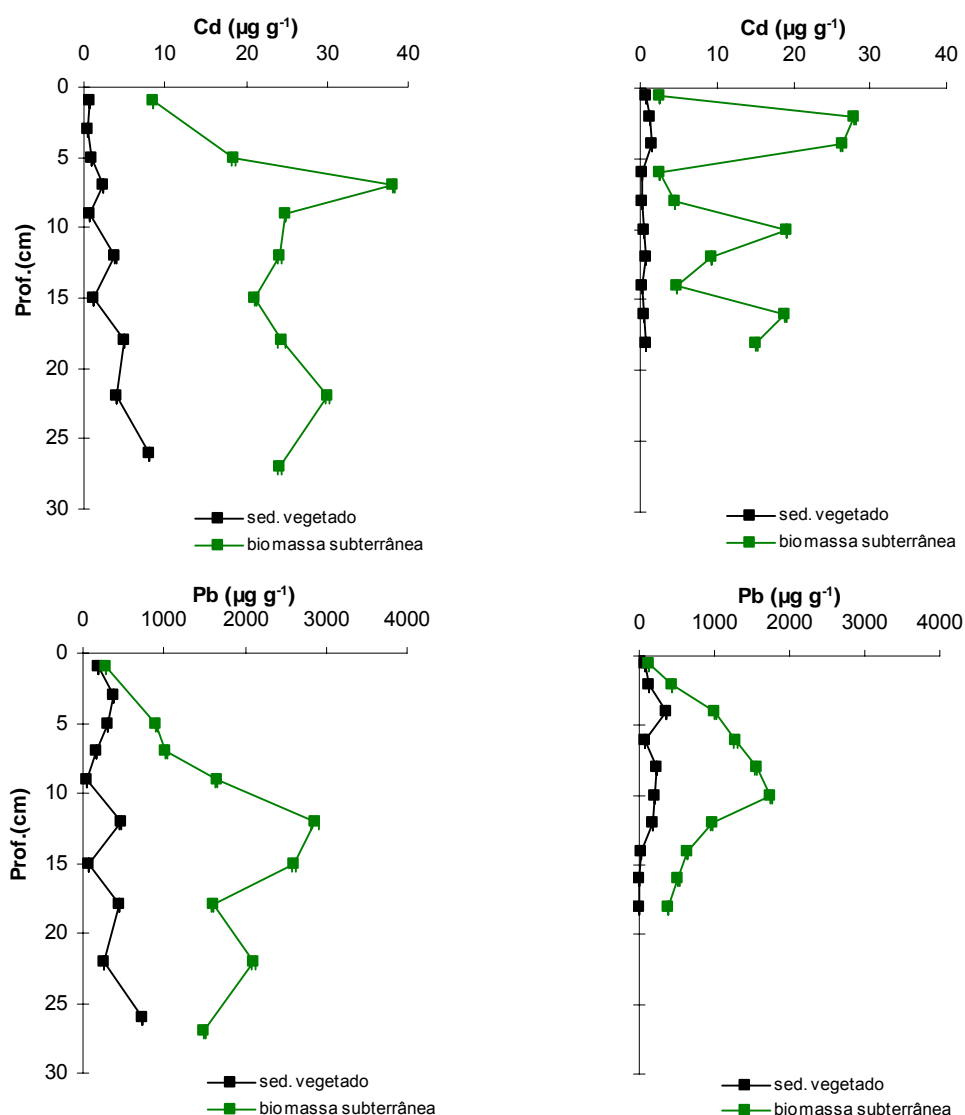


Figura 14 – Perfis verticais das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nos sedimentos colonizados por *S. fruticosa* e *S. maritima* e na biomassa subterrânea do Sapal do Rosário. As barras de desvio representam os desvios padrão para $n=5$.

De um modo geral, os artigos sobre acumulação de metais em plantas consideram a biomassa subterrânea como um compartimento indivisível (ex., Weis & Weis, 2004). A opção de quantificar os teores de metais em diversas zonas das raízes permitiu verificar se existem camadas de acumulação preferenciais de metais nos tecidos das raízes. De facto, foi possível registar que a acumulação de metais nas raízes tem uma forte variação em profundidade. Os exemplos mais claros foram observados para o Zn e para o Pb. No caso do Zn, as raízes da *S. fruticosa* apresentaram uma concentração de $320 \mu\text{g g}^{-1}$ na camada superficial (0-2 cm) aumentando para $11016 \mu\text{g g}^{-1}$ a 25 cm de profundidade. De um modo similar, as concentrações de Pb nas raízes da *S. maritima* foram $126 \mu\text{g g}^{-1}$ na camada superficial aumentando para $2870 \mu\text{g g}^{-1}$ a 10 cm de profundidade e diminuindo para camadas mais profundas. Esta variação em profundidade sugere que há diferente disponibilidade de Zn, Cu, Cd e Pb na água intersticial. As diferenças entre plantas, já evidenciadas através dos níveis

observados no sedimento, são mais claras quando se compara os níveis nas raízes. A quantidade de metais detectada na biomassa subterrânea da *S. fruticosa* foi superior aos valores observados na *S. maritima*. Os resultados obtidos não permitem concluir a partição dos metais nos tecidos das raízes. No entanto, estudos realizados por [Hansel et al. \(2001\)](#), mostraram que, para a planta *Phalaris arundinacea*, a maior concentração dos metais encontra-se na parede exterior das raízes.

As raízes de ambas as plantas apresentaram concentrações de metais mais elevados que os sedimentos na mesma profundidade (Figura 13). Estas diferenças foram mais evidentes para a *S. fruticosa* comprovando os resultados obtidos no sedimento e atribuindo mais ênfase à diferença entre o sistema radicular das duas plantas estudadas. A acumulação de elevadas quantidades de Zn, Cu, Cd e Pb nas raízes indica que uma importante porção destes metais é mobilizada entre o sedimento e as raízes. A separação do material radicular do sedimento efectuada neste trabalho não permitiu distinguir as raízes mortas das vivas pelo que para o *pool* de metais detectado na biomassa subterrânea possa também contribuir material orgânico em decomposição derivado das raízes.

Salienta-se que a concentração de metais na biomassa subterrânea da *S. fruticosa* aumentou em profundidade, sendo as raízes abaixo dos 10 cm de profundidade as que continham valores mais elevados. O exemplo mais contrastante foi o Zn, em que a concentração na camada superficial foi 100 vezes inferior aos valores registados nas raízes que se situam na interface com a zona anóxica do sedimento. A penetração destas raízes em sedimentos mais profundos pode induzir a oxidação de sulfuretos de ferro através da libertação de oxigénio. Estes compostos, abundantes ([Madureira et al., 1997](#)) nestes sedimentos, têm associados metais vestigiais que possivelmente co-precipitam ou adsorvem ([Morse, 1994](#); [Cooper & Morse, 1998](#)). Este mecanismo cria um gradiente de metais dissolvidos que poderão ser captados pelas raízes das plantas à medida que elas absorvem água e nutrientes. Deve também considerar-se a hipótese dos metais se acumularem em raízes mortas ou em decomposição porque este estudo não distinguiu as raízes mortas das vivas. Os perfis de concentração de metais na *S. maritima* não demonstraram esta tendência para todos os metais mas foram detectadas camadas de sedimento em que a acumulação foi preferencial. Em suma, os resultados obtidos no sapal do Rosário mostram que a zona radicular não é um compartimento uniforme, como considerado em diversos trabalhos anteriores ([Wang et al., 2002](#); [Alongi et al., 2004](#); [Weis & Weis, 2004](#); [Deng et al., 2006](#)).

7 FACTORES DE ENRIQUECIMENTO

A capacidade das plantas em acumular metais dos sedimentos foi avaliada através do Factor de Enriquecimento (FE), calculado como a razão entre a concentração de metal na biomassa subterrânea das plantas e no sedimento da respectiva camada (Figura 15). Este factor permitirá verificar se o aumento da concentração de metais nas raízes resulta da disponibilidade dos metais no sedimento ou se é controlado pela actividade da planta.

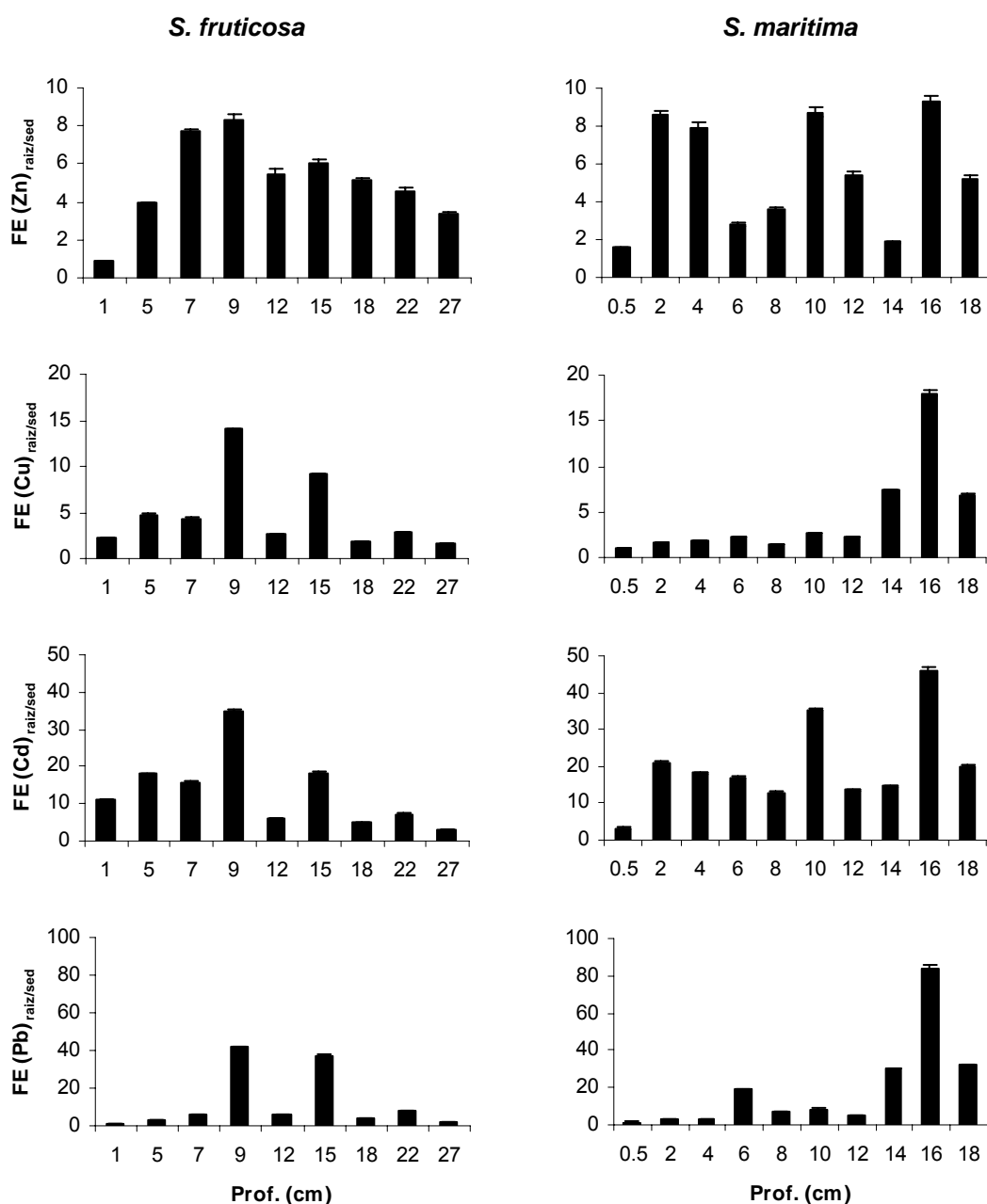


Figura 15 – Factores de enriquecimento (FE $_{\text{raiz/sedimento}}$) de Zn, Cu, Cd e Pb nas camadas com raízes das plantas *S. maritima* e *S. fruticosa*. As barras de desvio representam os desvios padrão para $n=5$.

Os factores de enriquecimento obtidos reflectem uma transferência de metais do sedimento para a raiz, o que está de acordo com as elevadas proporções de Zn, Cu Cd e Pb de origem antropogénica nos sedimentos do sapal do Rosário (Caçador *et al.*, 1996b). Para além disso, os FE variaram com a profundidade, reforçando assim a hipótese de existência de camadas preferenciais de acumulação de metais pelas raízes de ambas as plantas, apesar da variação em profundidade não ser a mesma que ocorre nos sedimentos. Esta diferença pode ter duas explicações: 1. os níveis de metais na biomassa subterrânea integraram as alterações ocorridas entre o sedimento e a água intersticial; 2. o *uptake* dos metais pelas raízes não é proporcional aos níveis existentes nos sedimentos. Com base nos FE obtidos foi possível estabelecer uma sequência de metais preferencialmente transferidos do sedimento para a

biomassa subterrânea de ambas as plantas: $Pb > Cd > Zn \approx Cu$. A elevada transferência de Pb e Cd dos sedimentos para as raízes sugere que uma grande quantidade destes metais circula entre os sedimentos, as raízes e o material vegetal em decomposição, que libertam progressivamente metais para as águas intersticiais.

8 ASSINATURA DOS ISÓTOPOS DE CHUMBO EM SEDIMENTOS NÃO VEGETADOS

As razões dos isótopos estáveis de chumbo, $^{206}Pb/^{207}Pb$ e $^{206}Pb/^{208}Pb$, nos sedimentos sem vegetação do sapal do Rosário aumentaram em profundidade (Figura 16). Esta assinatura é semelhante com a vulgarmente observada em outros sedimentos marinhos (Gobeil *et al.*, 2001).

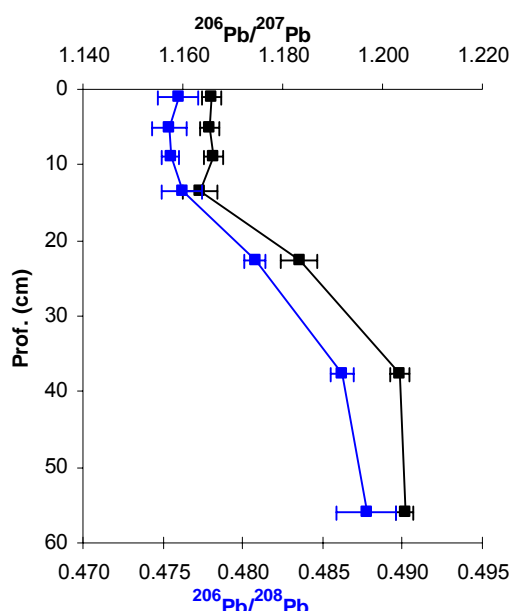
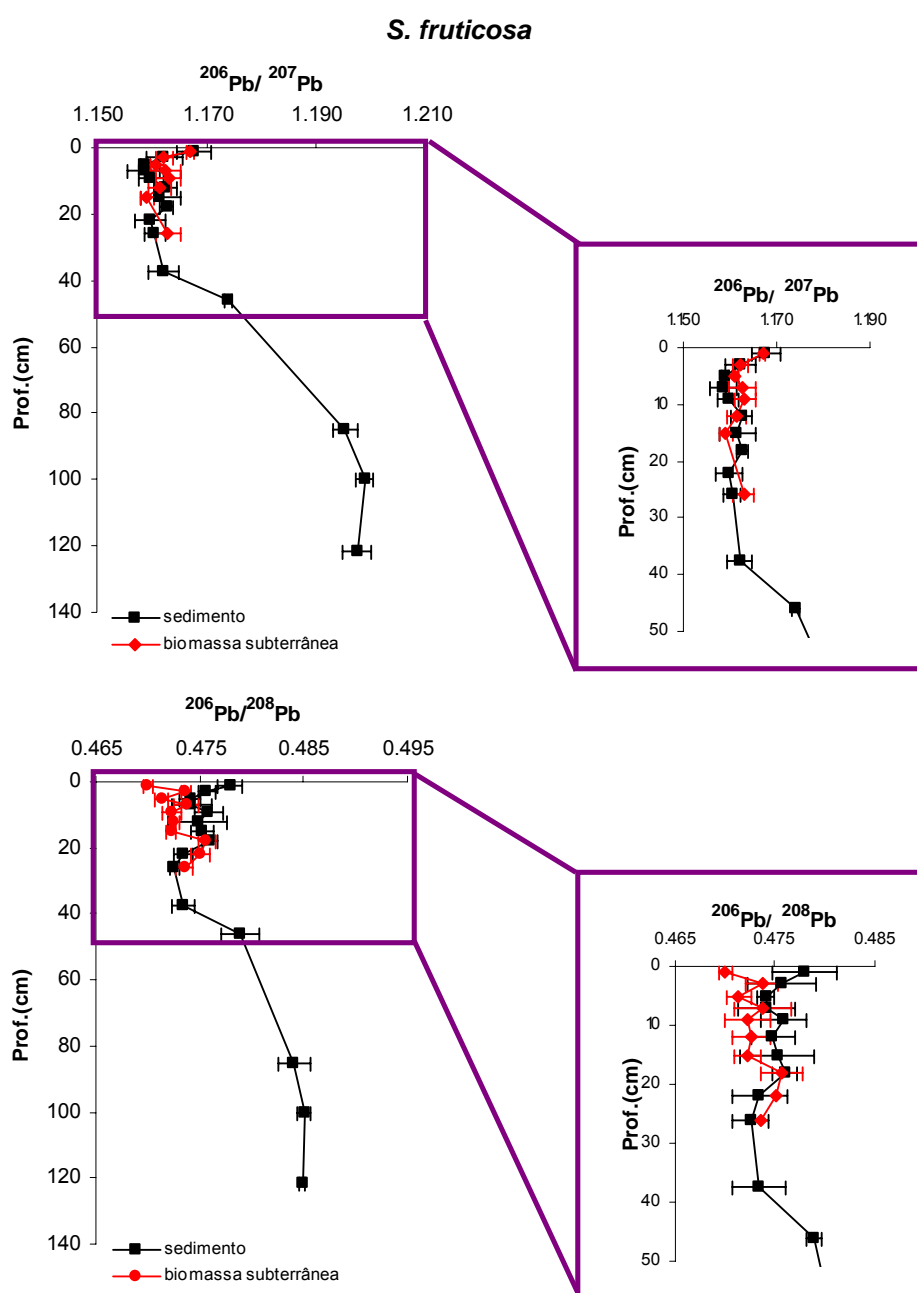


Figura 16 – Perfil vertical das razões $^{206}Pb/^{207}Pb$ e $^{206}Pb/^{208}Pb$ nos sedimentos não vegetados do sapal do Rosário. As barras de desvio indicam o desvio padrão para $n=5$.

A camada superficial de 13 cm do sedimento apresentou baixa assinatura radiogénica (1.163-1.166) aumentando gradualmente até 1.205 aos 60 cm de profundidade. A assinatura das camadas superficiais foi próxima à registada por Sundby *et al.* (2005) no mesmo sapal (1.166-1.170), sendo também comparável com valores encontrados em sedimentos no Noroeste do mar Mediterrâneo (1.158-1.174) (Ferrand *et al.*, 1999; Alleman *et al.*, 2000), assim como ao Pb atmosférico em aerossóis registado durante a última década, na Europa Ocidental (Veron *et al.*, 1999; Bollhofer & Rosman, 2001), sugerindo assim a mistura de Pb proveniente de várias origens. As razões isotópicas $^{206}Pb/^{207}Pb$ e $^{206}Pb/^{208}Pb$ nas camadas mais profundas de sedimento foram comparáveis à assinatura de Pb determinada para a época anterior aos fenómenos de poluição (época pré-industrial) e registada no Noroeste de Espanha (Kylander *et al.*, 2005) e em vários sistemas estuarinos de França (Elbaz-poulichet *et al.*, 1986; Alfonso *et al.*, 2001).

9 ASSINATURA ISOTÓPICA DE CHUMBO EM SEDIMENTOS VEGETADOS E NA BIOMASSA SUBTERRÂNEA

Tal como observado para os sedimentos sem vegetação também as razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos vegetados por *S. fruticosa* e *S. maritima* aumentaram com a profundidade (Figura 17). No entanto, a camada de sedimento com assinatura menos radiogénica (Pb antropogénico) nos sedimentos com vegetação foi mais espessa. Este aumento do Pb antropogénico pode ter resultado da migração deste metal durante a tomada de água e solutos pelas plantas (Sundby *et al.*, 2005). Para além deste facto, salienta-se que a espessura da camada de sedimento com assinatura menos radiogénica ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} = 1.160\text{--}1.167$) difere no sedimento das duas plantas estudadas (0-37 cm para a *S. fruticosa* e 0-16 cm para a *S. maritima*).



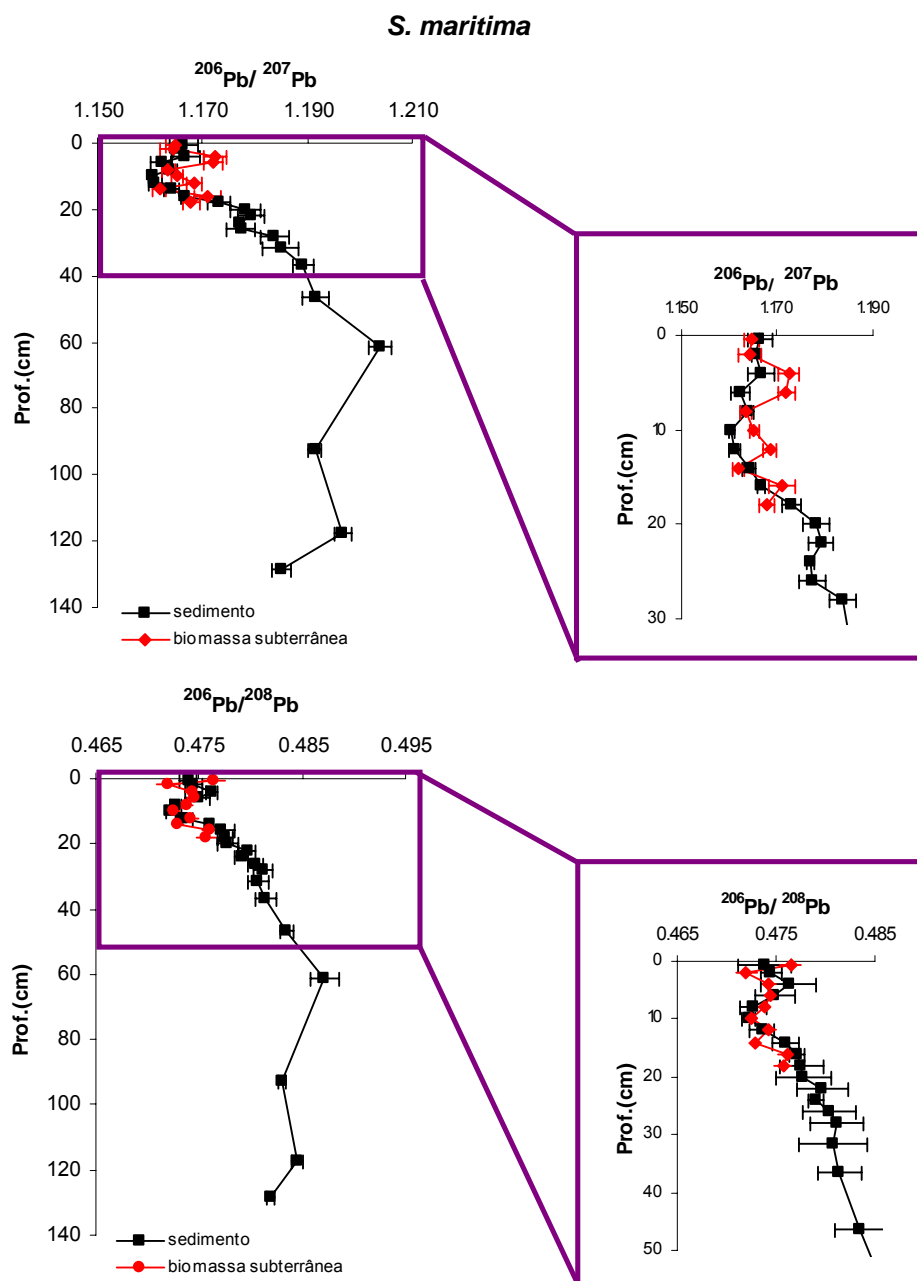


Figura 17 – Perfis de profundidade das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos colonizados por *S. maritima* e *S. fruticosa* e na biomassa subterrânea do Sapal do Rosário. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para $n=5$.

As diferenças nos perfis entre a *S. fruticosa* e a *S. maritima* são presumivelmente resultantes das diferentes zonas radiculares características de cada espécie. Estes resultados mostram que as plantas alteraram o perfil das razões isotópicas de Pb no sedimento e fornecerão informações erróneas relativamente à cronologia de poluição do Pb. De um modo geral, a interação entre as raízes e o sedimento mobiliza os metais uniformizando a assinatura em toda a zona radicular. De facto, as razões isotópicas de chumbo na biomassa subterrânea foram semelhantes às observadas no sedimento vegetado (Figura 17), sugerindo que as plantas mobilizam o Pb dos sedimentos, acumulam nas raízes e durante o ciclo de vida o redistribuem pelo sedimento (Sundby *et al.*, 2005).

10 ESTIMATIVA DE CHUMBO NATURAL E ANTROPOGÉNICO ACUMULADO NAS RAÍZES

De modo a avaliar a porção de Pb antropogénico nos sedimentos foi estabelecida uma correlação linear entre as razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ ($r=0.975$; $p<0.001$). Este resultado sugere que o chumbo nos sedimentos constitui uma mistura de Pb natural e antropogénico de diversas fontes (Ferrand *et al.*, 1999; Marcantonio *et al.*, 1999). A razão $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ dos componentes de Pb antropogénico, em sedimentos do Tejo, pode ser determinada usando o modelo de mistura proposto por Ferrand *et al.*, (1999). A extrapolação dos valores da razão $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ para $1/\text{Pb}=0$ ($r=0.920$; $p<0.001$) indica a assinatura da componente antropogénica ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}=1.154\pm0.006$) derivado de diversas fontes. Este valor é semelhante ao obtido anteriormente por Sundby *et al.*, (2005) em sedimentos do estuário do Tejo. No entanto, as elevadas concentrações de Pb registadas com este trabalho permitiram um melhor conhecimento e definição da intercepção com o eixo dos XX. A fracção de Pb antropogénico em cada camada de raízes pode ser calculada pela aplicação da seguinte equação (Sundby *et al.*, 2005):

$$\left(\frac{^{206}\text{Pb}}{^{207}\text{Pb}}\right)(\text{amostra}) = x \cdot \left(\frac{^{206}\text{Pb}}{^{207}\text{Pb}}\right)(\text{antropogénico}) + (1 - x) \cdot \left(\frac{^{206}\text{Pb}}{^{207}\text{Pb}}\right)(\text{natural}) \quad (\text{v})$$

onde $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}(\text{antropogénico}) = 1.154$ e $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}(\text{natural}) = 1.204$. Uma vez não terem sido observadas diferenças entre a assinatura de Pb nas raízes e nos sedimentos superficiais (Figura 17), é possível estimar o valor de Pb natural e antropogénico nas raízes. Nas duas plantas analisadas as concentrações antropogénicas alcançaram valores de $2443 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 18), o que excede em grande escala o valor de Pb natural (máximo de $436 \mu\text{g g}^{-1}$).

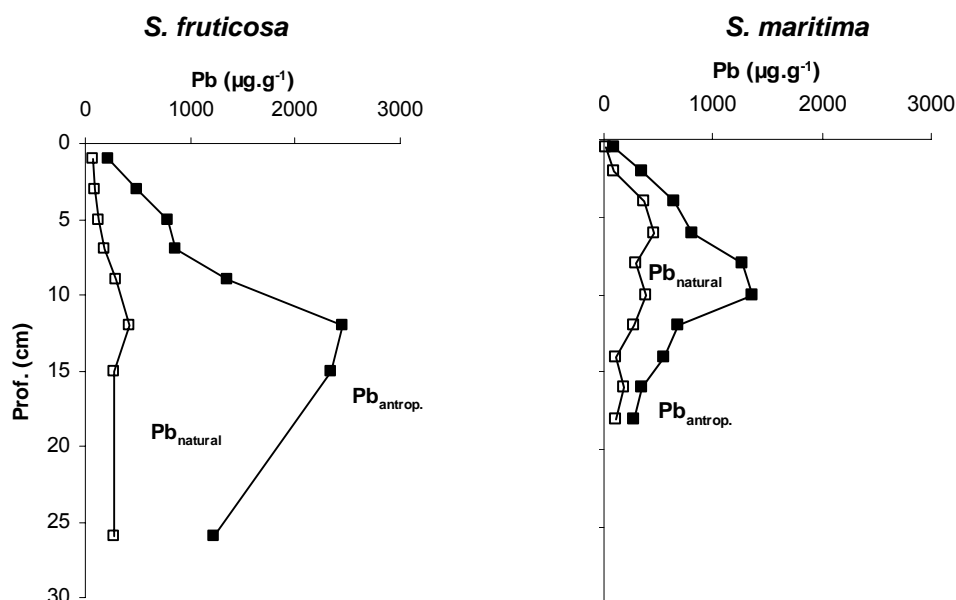


Figura 18 – Perfis verticais das concentrações de Pb antropogénico e natural, na biomassa subterrânea das plantas *S. fruticosa* e *S. maritima*, do sapal do Rosário.

Um aspecto bastante interessante é o facto de tanto o Pb antropogénico como o natural exibirem nas raízes um máximo à mesma profundidade (aos 12 cm para a *S. fruticosa* e aos 10 cm para a *S. maritima*), mas a proporção de Pb antropogénico face ao Pb total é superior em relação ao Pb natural ($83\% \pm 4\%$ para a *S. fruticosa* e $74\% \pm 8\%$ para a *S. maritima*) e relativamente constante com a profundidade. Estas variações em profundidade indicam que estas plantas extraem níveis de Pb natural, o que está de acordo com o encontrado para sistemas estuarinos (Caçador *et al.*, 1996a, b).

Parte II – Influência dos organismos macrobentônicos na química do sedimento. Teste Laboratorial.

1 SEDIMENTO DE CONTROLO

Tal como o efectuado para o tratamento de resultados das plantas, as concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb foram normalizadas para o Al. Embora os cores de sedimento tenham sido concebidos com materiais sedimentares de diferentes origens, os teores de Al foram relativamente constantes (9-12%) em profundidade. A Figura 19 apresenta os perfis verticais das razões metal/Al nos cores de sedimento de controlo, realizados no ensaio laboratorial com os poliquetas *Nereis diversicolor*, para avaliar o seu efeito bioturbador na distribuição de metais na coluna de sedimento.

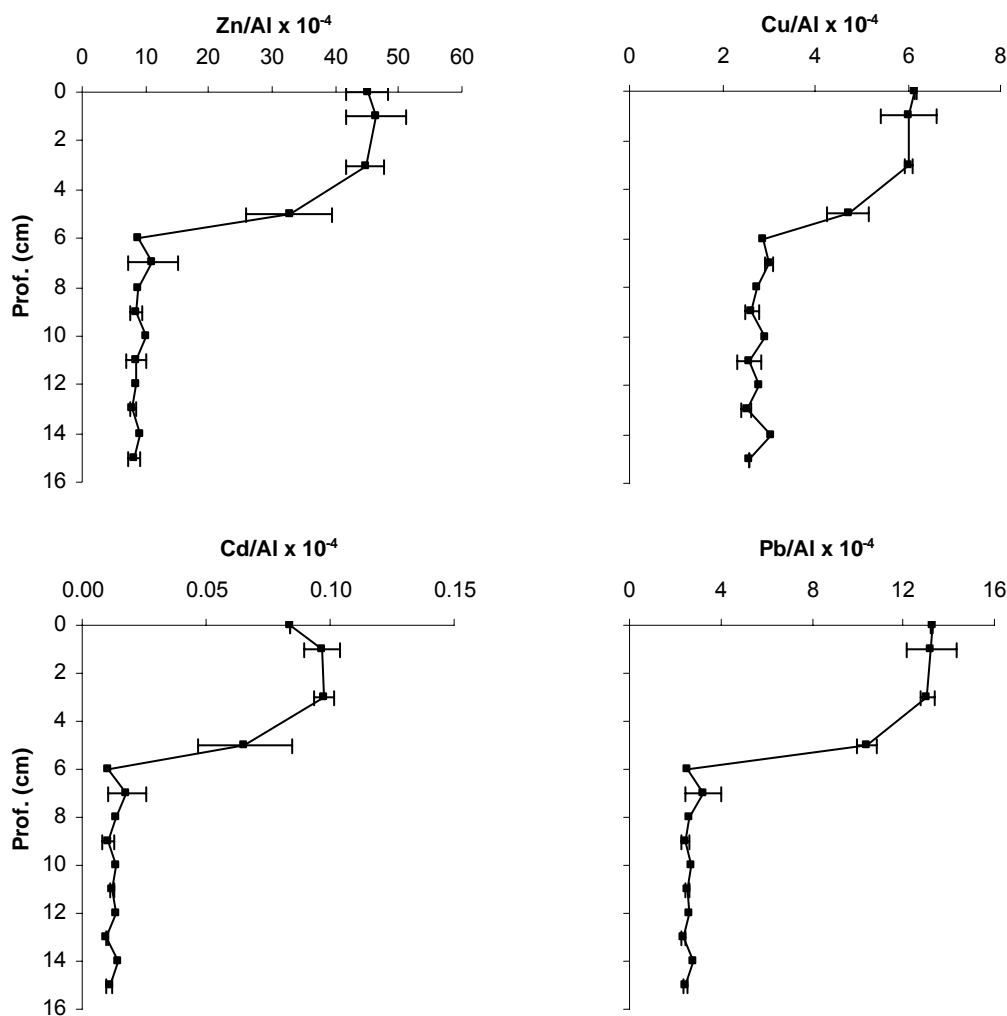


Figura 19 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al nos cores de sedimento de controlo. As barras de desvio representam os desvios padrão para $n=5$.

Os perfis das razões metal/Al foram similares para os 4 metais estudados tendo sido observado valores mais elevados entre a superfície do sedimento e os 4 cm de profundidade. Abaixo desta camada as razões decresceram bruscamente para valores relativamente constantes em profundidade. Este perfil padrão mostra que a camada superior do sedimento é, respectivamente, 5.6, 2.5, 8.4 e 5.2 vezes mais contaminada em Zn, Cu, Cd e Pb, em comparação à base do core. Estes resultados mostram a existência de dois ambientes sedimentares contíguos mas com níveis de contaminação completamente distintos.

2 DISTRIBUIÇÃO DE METAIS EM SEDIMENTOS COLONIZADOS POR *NEREIS DIVERSICOLOR*

Os perfis verticais das razões Me/Al nos sedimentos colonizados estão apresentados na Figura 20.

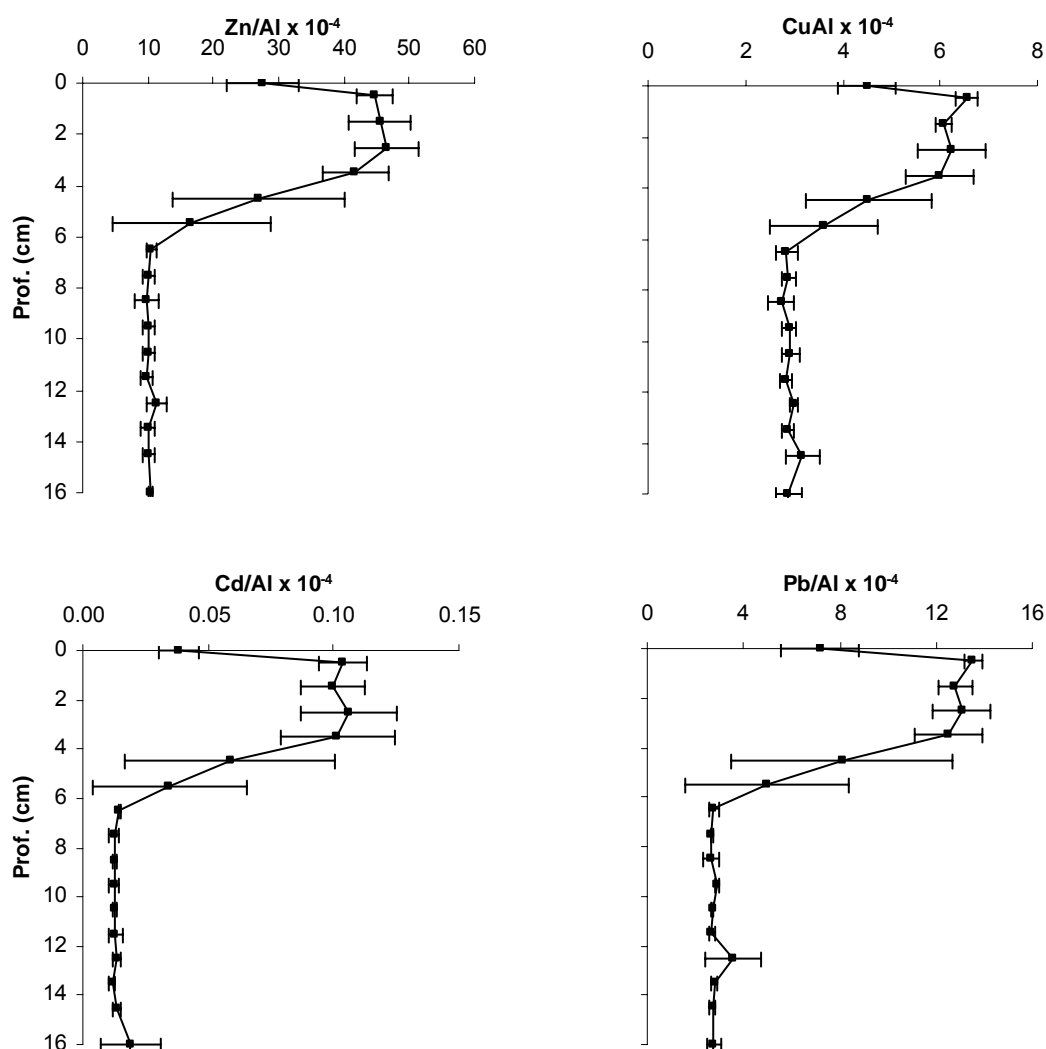


Figura 20 – Perfis verticais das razões Zn/Al, Cu/Al, Cd/Al e Pb/Al nos cores de sedimento colonizados com poliquetas *Nereis diversicolor*, durante 31 dias. As barras de desvio representam os desvios padrão para $n=5$.

Embora a forma dos perfis verticais nos sedimentos colonizados por *Nereis diversicolor* seja semelhante à obtida nos sedimentos de controlo, claras alterações foram observadas devido à actividade destes poliquetas durante 31 dias. As razões metal/Al na camada superficial (0-1.5 cm) do sedimento foram inferiores às observadas imediatamente abaixo. Este resultado sugere que houve uma remoção dos metais da superfície devido a reacções com a coluna de água. A maior área de interface sedimento-água nos sedimentos bioturbados promove a troca de solutos entre o sedimento e a água sobrenadante (Hélder & Andersen, 1987; Kristensen & Blackburn, 1987; Marinelli, 1994; Davey and Watson, 1995) e a expansão da zona óxica do sedimento (Flint & Kalke, 1986; Hylleberg & Henriksen, 1980; Sorensen, 1978; Tamaki & Suzukawa, 1991).

Estudos efectuados por Kristensen (1984) com *Nereis virens* e por Gerino & Stora (1991) com *Nereis diversicolor* revelaram que as galerias provocadas por estas espécies (densidades $\approx 1000 \text{ m}^{-2}$), aumentam cerca de 3 vezes a zona de contacto entre sedimento e água sobrenadante (Davey & Watson, 1995). Assim, nos ensaios efectuados neste trabalho, em que a densidade de *Nereis diversicolor* foi 1263 organismos por m^{-2} , podem ter ocorrido intensas trocas entre o sedimento e a água sobrenadante. De facto, a mineralização da matéria orgânica é estimulada pela presença de macroorganismos escavadores, tal como a espécie *Nereis diversicolor*, que aumenta a ventilação do sedimento e a necessidade de O_2 para camadas mais profundas do sedimento favorecendo a degradação aeróbica (Heilskov & Holmer, 2001, Banta & Andersen, 2003; Kristensen, 2001,2003). No entanto, a diminuição das razões metal/Al implicariam um grande aumento de metais na coluna de água e a alteração profunda do seu fraccionamento no sedimento. A verificar-se apenas esta hipótese esperar-se-ia repercussões para camadas abaixo de 1 cm, sugerindo que a alteração dos perfis à superfície seja também devido ao transporte de sedimento de camadas mais profundas, com concentração de metais mais baixa, para a superfície. Um dos processos de transporte terá sido a ingestão de sedimento pelos poliquetas. A *N. diversicolor* é considerada uma espécie depositívora e como tal, pode processar grandes quantidades de sedimento de modo a obter condições de nutrição adequadas às suas necessidades (Banta & Andersen, 2003). Os depositívoros ingerem materiais sedimentares e libertam pequenas partículas em forma de fezes. Estes materiais fecais criam uma camada instável nos primeiros cm de sedimento a partir do topo e são facilmente ressuspensos com os movimentos da água (Kogure & Wada, 2005).

Outro resultado que sugere o transporte de sedimento entre a camada com menor contaminação e a superfície do sedimento contaminado, foi o aumento da variabilidade das razões metal/Al na interface destes materiais. As grandes barras de erro sugerem uma mistura de sedimentos devido à actividade dos poliquetas.

3 ASSINATURA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CHUMBO NOS SEDIMENTOS DE CONTROLO

A variação em profundidade das razões dos isótopos estáveis de chumbo, $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ é apresentada na Figura 21.

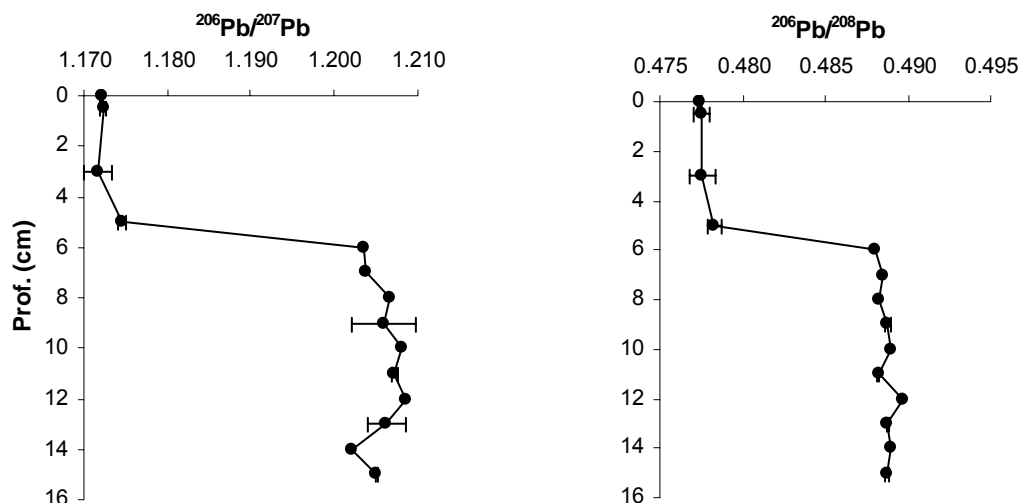


Figura 21 – Perfis verticais das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos sem bioturbação. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para $n=5$.

As razões isotópicas de Pb apresentaram valores inferiores até aos 5 cm de profundidade, indicando assim uma baixa assinatura radiogénica (1.172-1.174 e 0.4773-0.478, para as razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$, respectivamente). Esta assinatura é similar à observada por [Sundby et al. \(2005\)](#) nos sedimentos superficiais do mesmo sapal, indicando que o material sedimentar utilizado na camada de 0-5 cm contém elevadas quantidades de Pb de origem antropogénica. A partir desta profundidade estes valores aumentaram drasticamente para 1.204 ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) e 0.488 ($^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$). Esta variabilidade em profundidade é comparável ao observado nos sedimentos não vegetados, do estudo da bioturbação das plantas no sedimento.

4 ASSINATURA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CHUMBO NOS SEDIMENTOS COM POLIQUETAS *NEREIS DIVERSICOLOR*

Na Figura 22 estão apresentadas as assinaturas dos isótopos estáveis de Pb nos sedimentos sob influência do poliqueta *Nereis diversicolor*.

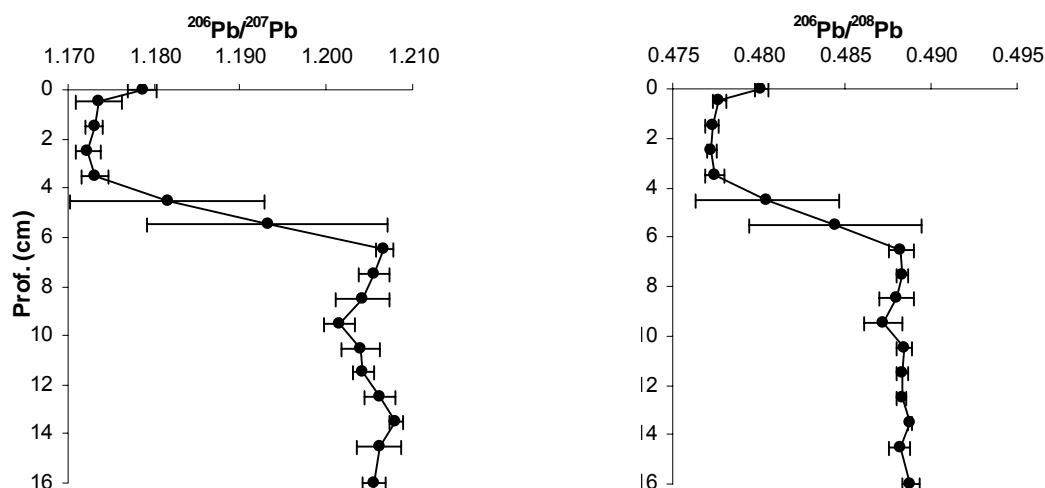


Figura 22 - Perfis verticais das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos com bioturbação por poliquetas *Nereis diversicolor*. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para $n=5$.

A camada superficial do sedimento (0-1.5 cm) com bioturbação apresenta um aumento na assinatura radiogénica de 1.172 para 1.180 ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) e de 0.477 para 0.480 ($^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$) relativamente ao sedimento não bioturbado. Abaixo desta profundidade (até aos 3 cm) as razões isotópicas apresentaram uma assinatura radiogénica inferior (1.173 ± 0.0005 para $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e de 0.477 ± 0.0001 para $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$). Entre os 4 e os 6 cm de profundidade a determinação das duas razões isotópicas apresentou uma elevada variabilidade face aos desvios registados em outras camadas de sedimento. Abaixo dos 6 cm a assinatura isotópica de Pb foi mais elevada que nos sedimentos superficiais e relativamente constante até à base do core. A assinatura radiogénica mais elevada é indicativa de uma menor contribuição do Pb de origem antropogénica face ao total, o que significa que abaixo dos 6 cm de profundidade o sedimento apresenta-se menos contaminado face ao sedimento das primeiras camadas.

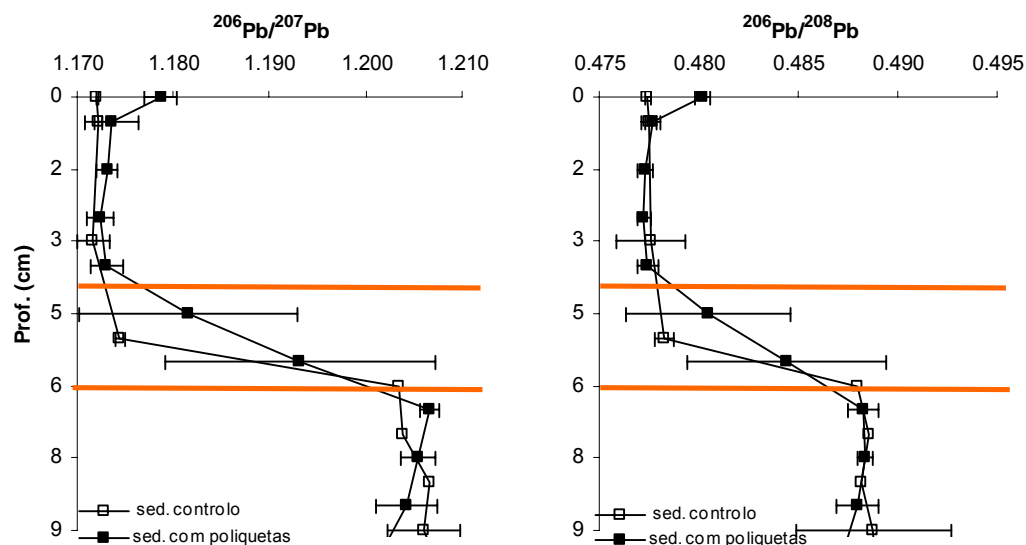


Figura 23 - Perfis verticais específicos das razões $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$ nos sedimentos controlo e nos sedimentos com poliquetas *Nereis diversicolor*. As barras de desvio correspondem ao desvio padrão para $n=5$.

Comparando as assinaturas isotópicas de Pb antes e após a bioturbação por poliquetas *Nereis diversicolor* (Figura 23) e assumindo que estas razões não sofrem alterações devido à natureza das partículas, diluições, e associadas a reacções químicas (Ferrand *et al.*, 1999) pode-se concluir que o aumento da assinatura radiogénica na superfície do sedimento foi devido à bioturbação causada pela *Nereis diversicolor*. Os movimentos destes poliquetas na construção de cavidades provocaram uma mistura de sedimento das camadas mais profundas com a camada superficial. Este resultado comprova que a diminuição das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb à superfície do sedimento (Figura 19) correspondem à deposição de partículas de sedimento e fezes com menores teores de metais provenientes de camadas de sedimento abaixo dos 6 cm de profundidade. A grande variabilidade apresentada na camada 4-6 cm foi provavelmente devida à mistura de sedimento provocada pela deslocação dos poliquetas ao longo da coluna sedimentar. Outro aspecto interessante que se obteve através das razões isotópicas de Pb foi a modificação do gradiente entre os sedimentos de controlo e os bioturbados por *Nereis diversicolor* (Figura 23). Este resultado confirma que o movimento dos poliquetas associado à formação das galerias e também à sua nutrição provocou uma mistura de partículas entre as duas camadas de sedimentos criadas artificialmente para o teste laboratorial. Uma das formas de mistura poderá ter sido devido ao muco que a *Nereis diversicolor* usa para consolidar as paredes das galerias retendo partículas de sedimento transportadas de baixo para cima (Gérino & Stora, 1991; Olivier, 1994; Peterson *et al.*, 1998).

Com base na classificação dos grupos funcionais de bioturbação (Michaud *et al.*, 2005,2006; Duport *et al.*, 2006; Fernandes *et al.*, 2006; Nogaro *et al.*, 2007) e nos resultados obtidos com o ensaio laboratorial, podemos inferir que a *Nereis diversicolor* tem um comportamento de "Upward-conveyors", transportando partículas de sedimento de camadas mais profundas para a superfície. Estes resultados parecem não estar em conformidade com os apresentados por diversos autores (François *et al.*, 2002; Fernandes *et al.*, 2006; Duport *et al.*, 2006; Nogaro *et al.*, 2007) que classificam o poliqueta *Nereis diversicolor* como "gallery-diffusers". Esta discrepância sugere que a espécie *Nereis diversicolor* pode adquirir diversos comportamentos face ao tipo de sedimento e de acordo com o ambiente em que habita ou que é sujeito em ensaios laboratoriais.

5 ESTIMATIVA DO CHUMBO NATURAL E ANTROPOGÉNICO NOS SEDIMENTOS

Na Figura 24 estão indicadas as concentrações de Pb antropogénico nos sedimentos de controlo e nos bioturbados por poliquetas *Nereis diversicolor*.

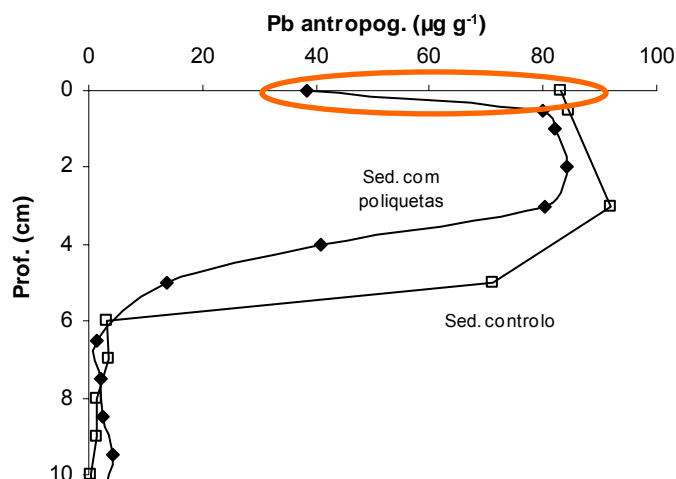


Figura 24 - Perfis verticais das concentrações de Pb antropogénico nos sedimentos de controlo e com poliquetas *Nereis diversicolor*.

Nos sedimentos de controlo as concentrações mais elevadas de Pb antropogénico encontraram-se até aos 5 cm de profundidade ($83 \pm 8.6 \mu\text{g g}^{-1}$), abaixo desta os níveis decrescem bruscamente para $2.0 \pm 1.2 \mu\text{g g}^{-1}$ mantendo-se relativamente constantes até à base do core. Este resultado sugere que abaixo dos 5 cm de profundidade a contribuição de Pb natural é maioritária relativamente ao Pb total ($94 \pm 3.8 \mu\text{g g}^{-1}$). Este comportamento é verificado também para os sedimentos bioturbados por *Nereis diversicolor*. No entanto, a diminuição da assinatura na camada superficial dos sedimentos devido ao transporte de partículas pelos poliquetas do fundo para a superfície originou um *input* de Pb natural nesta camada. A fracção de Pb antropogénico nesta camada foi estimada com base na equação (v) (ver parte I dos resultados e discussão). Sendo o sedimento originário do mesmo local do estudo da bioturbação pelas plantas, utilizou-se as mesmas razões isotópicas indicativas do Pb antropogénico e do Pb natural. A actividade dos poliquetas provocou um aumento de 46% de Pb natural na superfície do sedimento. Este incremento causou uma diminuição da fracção de Pb antropogénico face ao Pb total nessa camada.

Capítulo V – Considerações Finais

A realização do estudo do efeito da bioturbação na distribuição de metais e de isótopos estáveis de Pb em sedimentos permitiu tirar as seguintes considerações:

- As plantas de sapal estudadas (*S. fruticosa* e *S. maritima*) têm grande capacidade para remover Zn, Cu, Cd e Pb dos sedimentos e retê-los nas suas raízes.
- A fraca acumulação destes metais na parte aérea das plantas indica que a *S. fruticosa* e a *S. maritima* acumulam a maior fracção nas raízes. Deste modo, a dispersão de metais para as águas adjacentes ao sapal é reduzida.
- A acumulação de metais é diferenciada em camadas de acumulação preferencial fazendo com que a biomassa subterrânea não deva ser encarada como uma "black box".
- A determinação das razões isotópicas de Pb, como marcadores, nos sedimentos de sapal permitiu concluir que as plantas alteram o ciclo dos metais, modificando os perfis de concentração em profundidade, obtendo-se por este motivo, informações erróneas no estudo da cronologia da poluição.
- A assinatura isotópica de Pb nas camadas de sedimento colonizado com *S. fruticosa* e *S. maritima* é similar à observada nas raízes, indicando que o *uptake* pelas raízes não diferencia entre isótopos de Pb de diferentes massas.
- A bioturbação causada pelo poliqueta *Nereis diversicolor* alterou os perfis verticais de Zn, Cu, Cd e Pb no sedimento de um modo diferente do observado para as plantas.
- A actividade dos poliquetas resultou no transporte de partículas de sedimento de zonas mais profundas para a superfície. Este transporte foi comprovado utilizando razões isotópicas de Pb que não são sensíveis à natureza do sedimento e a alterações das reacções diagenéticas.
- As razões dos isótopos estáveis de Pb revelaram ser um marcador do transporte físico de sedimentos ao longo da coluna sedimentar.
- O transporte de sedimentos de camadas mais profundas para a superfície causa a exposição destes materiais a condições ambientais completamente diferentes (oxigénio, pH,...) com consequências no fraccionamento dos metais e provavelmente na transferência de metais para a água.
- Os resultados obtidos permitiram também classificar o tipo de bioturbação provocado pela *Nereis diversicolor* como "Upward conveyor", visto que o

transporte de partículas ocorreu no sentido das camadas mais profundas para a superfície.

- A presença de poliquetas *Nereis diversicolor* ou plantas em sedimentos provocou grandes modificações na distribuição de metais ao longo da coluna sedimentar. Estas alterações foram confirmadas através das razões dos isótopos estáveis de Pb.

Capítulo VI – Referências Bibliográficas

- Abrantes, A., Pinto, F. & Moreira, M.H. 1999. Ecology of the polychaete *Nereis diversicolor* in the canal de Mira (ria de Aveiro, Portugal): population dynamics, production and oogenic cycle. *Acta Oecologica*, 20(4):267-283.
- Alfonso, S., Grousset, F., Massé, L. & Tastet, J-P. 2001. A European lead isotope signal recorded from 6000 to 300 years BP in coastal marshes (SW France). *Atmospheric Environment*, 35:3595-3605.
- Alleman, L., Hamelin, B., Veron, A., Miquel, J.C. & Heussner, S. 2000. Lead sources and transfer in the coastal Mediterranean: evidences from stable lead isotopes in marine particles. *Deep-Sea Research*, 47:2257-2279.
- Aller, C.R. 1978. The influence of animal-sediment interactions on geochemical processes near the sediment-water interface, in *Estuarine Interactions*, (Ed. M.L. Wiley), Academic Press, New York, pp. 157-172.
- Aller, R.C. 1980. Quantifying solute distributions in the bioturbated zone of marine sediments by defining an average microenvironment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44:1955-1965.
- Aller, R.C. 1994. The Sedimentary Mn cycle in Long Island Sound: its role as intermediate oxidant and influence of bioturbation, O₂ and C_{org} flux on diagenetic reaction balances. *Journal Marine Research*, 52:259-295.
- Aller, R.C. & Cochran, J.K. 1976. Th-234/U-238 disequilibrium in nearshore sediment: particle reworking and diagenetic time scales. *Earth and Planetary Science Letters*, 20:37-50.
- Aller R.C. & Yinst, J.Y. 1978. Biochemistry of tube-dwellings: a study of the sedentary polychaete *Amphitrite ornata* (Leidy). *Journal of Marine Research*, 36:201-254.
- Alloway, B.J. 1990. Soil processes and the behaviour of metals. In: *Heavy Metals in the Soils*. (Ed Alloway, B.J.). John Wiley and Sons, Glasgow, pp. 7-27.
- Almeida, C., Mucha, A. & Vasconcelos, M. 2004. Influence of the sea Rush *Juncos maritimus* on metal concentration and speciation in estuarine sediment colonized by the plant. *Environmental Science & Technology*, 38:3112-3118.
- Almeida, C., Mucha, A. & Vasconcelos, M. 2006. Variability of metal contents in the sea rush *Juncos maritimus*-estuarine sediment system through one year of plant's life. *Marine Environment Research*, 61:424-438.
- Alongi, D., Wattayakorn, G., Botle, S., Tirend, F., Pyan, C. & Dixon, P. 2004. Influence of roots and climate on mineral and trace element storage and flux in tropical mangrove soils. *Biogeochemistry*, 69:105-123.
- Andersen, F.O. & Kristensen, E. 1991. Effects of burrowing macrofauna on organic matter decomposition in coastal marine sediments. *Symposium of Zoological Society of London*, 63:69-88.

- Anderson, J.G. & Meadows, P.S. 1978. Microenvironments in marine sediments. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, 76B:1-16.
- Armstrong, W. 1978. Root aeration in the wetland condition, in Plant Life in Anaerobic Environments, (Eds. D.D. Hook and R.M.M. Crawford), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Michigan, pp. 269-298.
- Banta, G.T. & Andersen, O. 2003. Bioturbation and the fate of sediment pollutants. Experimental case studies of selected infauna species. *Vie Milieu*, 53(4):233-248.
- Benito, I. & Onaindia, M. 1991. Biomass and aboveground production of four angiosperms in Cantabrian (N. Spain) salt marshes. *Vegetatio*, 96:165-175.
- Berner, R. 1980. Early Diagenesis. A theoretical approach. Princeton University Press, USA, 241 pp.
- Bird, F.L., Boon, P.I. & Nichols, P.D. 2000. PhysicoChemical and microbial properties of burrows of the deposit-feeding Thalassinidean Ghost Shrimp *Biffarius arenosus* (Decapoda: Callianassidae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 51:279-291.
- Bollhofer, A. & Rosman, K. 2001. Isotopic source signatures for atmospheric lead: the Northern Hemisphere. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 65:1727-1740.
- Botto, F. & Iribarne, O. 2000. Contrasting effects of two burrowing crabs (*Chasmagnathus granulata* and *Uca uruguayensis*) on sediment composition and transport in estuarine environments. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 51:141-151.
- Bufflap, S.E. & Allen, H.E. 1995. Sediment pore water collection methods for trace metal analysis: a review. *Water Research*, 29(1):165-177.
- Burdige, D. 1993. The biogeochemistry of manganese and iron reduction in marine sediments. *Earth Sciences Reviews*, 35:249-284.
- Caçador, I. 1994. Acumulação e retenção de metais pesados nos sapais do estuário do Tejo. Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Caçador, I., Costa, A., & Vale, C. 2004. Carbon storage in Tagus salt marsh sediments. *Water, Air, and Soil Pollution, Focus* 4:701-714.
- Caçador, I., Madureira, M.J. & Vale, C. 2000a. Effects of plant roots on salt-marsh sediment geochemistry. *Muddy coast Dynamics and Resource Management*, (Eds. Flemming, B.W., Delafontaine, M.T. & Liebezeit, G.), Elsevier Science, pp.197-204.
- Caçador, I., Mascarenhas, I. & Mascarenhas, P. 1999. Biomass of *Spartina maritima*, *Halimione portulacoides* and *Arthrocnemum fruticosum* in Tagus estuary salt marshes. Halophyte uses in different climates. (Eds. Handy et al.). Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands, pp.31-39.
- Caçador, I. & Vale, C. 2001. Salt Marshes. In: *Metals in the Environment, Analysis by Biodiversity*. (Ed. Prasad, M.N.V., University of Hyderabad, Hyderabad, India), Marcel Dekker Inc, New York, pp.95-116.

- Caçador, I. & Vale, C. 2002. Os Sapais: Um Ambiente Complexo ao Serviço dos Investigadores. In: Fragmentos em Ecologia. (Ed. Escolar editora), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pp.163-173.
- Caçador, I., Vale, C. & Catarino, F. 1996a. Accumulation of Zn, Pb, Cu and Ni in sediments between roots of Tagus estuary salt marshes, Portugal. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 42:393-403.
- Caçador, I., Vale, C. & Catarino, F. 1996b. The influence of plants on concentration and fractionation of Zn, Pb and Cu in salt marsh sediments (Tagus estuary, Portugal). *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 5:193-198.
- Caçador I., Vale C. and Catarino F. 2000b. Seasonal variation of Zn, Pb, Cu and Cd concentrations in the root-sediment system of *Spartina maritima* and *Halimione portulacoides* from Tagus estuary salt marshes. *Marine Environmental Research* 49:279-290.
- Caetano, M. 1998. Biogeoquímica do manganês, ferro, cobre e cádmio em sedimentos da ria Formosa. Tese de Doutoramento, Universidade do Algarve, 181 pp.
- Caetano, M., Fonseca, N., Cesário, R. & Vale, C. 2007a. Mobility of Pb in salt marshes recorded by total content and stable isotopic signature. *Science of the Total Environment*, 308:84-92.
- Caetano, M. & Vale, C. 2002. Retention of arsenic phosphorus in iron-rich concretions of Tagus salt marshes. *Marine Chemistry*, 79:261-271.
- Caetano, M., Vale, C., Cesário, R. & Fonseca, N. 2007b. Evidence for preferential depths of metal retention in roots of salt marsh plants. *Science of the Total Environment*, in press.
- Chenhall, B.E., Yassini, I. & Jones, B.G. 1992. Heavy metal concentrations in lagoonal salt marsh species, Illawarra region, Southeastern Australia. *Science of the Total Environment*, 125:203-225.
- Clavero, V., Fernández, J.A. & Niell, F.X. 1992. Bioturbation by *Nereis* sp. and its effects on the phosphate flux across the sediment-water interface in the Palmones river estuary. *Hydrobiologia*, 235/236:387-392.
- Clavero, V., Niell, F.X. & Fernández, J.A. 1991. Effects of *Nereis diversicolor* O. F. Muller abundance on the dissolved phosphate exchange between sediment and overlying water in Palmones river estuary (Southern Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 33:193-202.
- Clothier, B. & Green, S. 1997. Roots: the big movers of water and chemicals in soil. *Soil Science*, 162:534-543.
- Cooper, D. & Morse, J. 1998. Extrability of metal sulphide minerals in acidic solutions: application to environmental studies of trace metal accumulation within anoxic sediments. *Environmental Science and Technology*, 32:1076-1078.

- Craft, C., Seneca, E. & Broome, S. 1991. Loss on ignition and Kjeldahl digestion for estimating organic carbon and total nitrogen in estuarine marsh soils: calibration with dry combustion. *Estuaries*, 14:175-179.
- Cundy, A., Croudace, I., Thomson, J. & Lewis, J. 1997. Reliability of salt marshes as "geochemical recorders" of pollution input: a case study from contrasting estuaries in Southern England. *Environmental Science and Technology*, 31:1093-1101.
- Davey, J.T. & Partridge, V.A. 1998. The macrofaunal communities of the Skeffting muds (Humber estuary), with a special reference to bioturbation. In: *sedimentary processes in the intertidal zone. Special publications*, (Eds. Black, K.S., Paterson, D.M. & Cramp, A.), vol. 1.39. Geological Society, London, pp.124-155.
- Davey, J.T. & Watson, P.G. 1995. The activity of *Nereis diversicolor* (Polychaeta) and its impact on nutrient fluxes in estuarine waters. *Ophelia*, 41:57-70.
- Davison, W., Grime, G., Morgan, J. & Clarke K. 1991. Distribution of dissolved iron in sediment pore waters at submillimetre resolution. *Nature*, 352:323-324.
- Dellapena, T.M., Kuehl, S.A. & Schaffner, L.C. 1998. Sea-bed mixing and particle residence times in biologically and physically dominated estuarine systems: a comparison of lower Chesapeake bay and the York river subestuary. *Estuarine Coastal and Shelf Research*, 46:777-795.
- DelValls, T., A., Chapman, P., M., Drake, P., Dulce Subida, M., Vale, C., de la Reguera, D., F. & Blasco, J. 2007. Benthos sediment quality assessments, In: *Sustainable Management of Sediment Resources: Sediment Quality and Impact Assessment of Pollutants*. (Eds. D. Barceló & M. Petrovic), Elsevier, pp. 215-261.
- Deng, H., Y, Z. & Wong, M. 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal contaminated sites of China. *Environmental Pollution*, 132:29-40.
- Deng, H., Y, Z. & Wong, M. 2006. Lead and zinc accumulation and tolerance in populations of six wetland plants. *Environmental Pollution*, 141:69-80.
- Dias, A.A. & Marques, J.M.S. 1999. Estuários. Estuário do Tejo: o seu valor e um pouco da sua história. Reserva Natural do estuário do Tejo, Instituto da Conservação da Natureza, Alcochete, 156 pp.
- Dijkema, K.S. & Eisma, D. 1998. The Influence of Salt Marsh Vegetation on Sedimentation. In: *Intertidal Deposits- River Mouths, Tidal Flats, and Coastal Lagoons*, (Eds. Kennish, M.J. & Lutz, P.L.), CRC Press, Florida, pp. 403-414.
- Doyle, M. & Otte, R. 1997. Organism-induced accumulation of iron, zinc and arsenic in wetland soils. *Environmental Pollution*, 96:1-11.
- Duport, E., Stora, G., Tremblay, P. & Gilbert, F. 2006. Effects of population density on the sediment mixing induced by the gallery-diffusor *Hediste (Nereis) diversicolor* O.F. Müller, 1976. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 336:33-41.

- Elbaz-poulichet, F., Holliger, F., Martin, J.-M. & Petit, D. 1986. Stable lead isotopes ratios in major French rivers and estuaries. *Science of the Total Environment*, 54:61-76.
- Esselink, P. & Zwarts, L. 1989. Seasonal trend in burrow depth and tidal variation in feeding activity of *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 56:243-254.
- Fernandes, S., Meysman, F.J.R. & Sobral, P. 2006. The influence of Cu contamination on *Nereis diversicolor* bioturbation. *Marine Chemistry*, 102:148-158.
- Ferrand, J.L., Hamelin, B. & Monaco, A. 1999. A isotopic tracing of anthropogenic Pb inventories and sedimentary fluxes in the gulf of Lions (NW Mediterranean Sea). *Continental Shelf Research*, 19:23-47.
- Ferreira, J.G. 1989. Mercúrio em algas macrófitas no estuário do Tejo. Tese de Doutoramento. Estudo ambiental do estuário do Tejo, Secretaria de Estado do Ambiente e Recursos Naturais, Lisboa, relatório 25, 3ª série.
- Fidalgo e Costa, P., Sardá, R. & Cancela da Fonseca, L. 1998. Life cycle, growth and production of the polychaete *Nereis diversicolor* O.F. Müller in three lagoonal estuarine systems fo the Sountherwertern Portuguese coast (Odeceixe, Alzezur e Carrapateira). *Écologie*, 29(4):523-533.
- Fitzgerald, E., Caffrey, J., Nesaratnam, S. & McLoughlin, P. 2003. Copper and Lead concentrations in salt marsh plants on the Suir estuary, Ireland. *Environmental Pollution*, 123:67-74.
- Flach, E., Lavaleye, M., de Stigter, H. & Thomsen, L. 198. Feeding types of the benthos community and particle transport across the slope of the N.W. European continental margin (Goban Spur). *Progress Oceanography*, 42:209-231.
- Flanagan, F. 1973. Values for international geochemical reference samples. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 37:1189-1200.
- Flint, R.W. & Kalke, R.D. 1986. Biological enhancement of estuarine benthic community structure. *Marine Ecology Progress Series*, 31:23-33.
- Förster, U. 1981. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Springer – Verlag, Berlin, 486 pp.
- François, F., Gerino, M., Stora, G., Durbec, J.P. & Poggiale, J.C. 2002. Functional approach to sediment reworking by gallery-forming macrobenthic organisms: modeling and application with the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 229:127-136.
- Gerino, M. & Stora, G. 1991. Analyse quantitative in vitro de la bioturbation induite par la Polychète *Nereis diversicolor*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Serie III. Sciences de la Vie*, Paris, 313:489-494.
- Gerino, M., Stora, G., Poydenot, F. & Bourcier, M. 1995. Benthic fauna and bioturbation on the Mediterranean continental slope: Toulon canyon. *Continental Shelf Research*, 15 (11/12):1483-1496.

- Gerino, M., Stora, G. & Weber, O. 1999. Evidence of bioturbation in the Cap-Ferret canyon in the deep Northeastern Atlantic. *Deep-Sea Research II*, 46:2289-2307.
- Giangrande, A., Licciano, M. & Fanelli, G. 2001. Bioturbation behaviour in two Mediterranean polychaetes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81:341-342.
- Gilberg, F., Bonin, P. & Stora G. 1995. Effect of bioturbation on denitrification in a marine sediment from the West Mediterranean littoral. *Hydrobiologia*, 304:49-58.
- Gilbert, F., Hulth, St., Stromberg, N., Ringdahl, K. & Poggiale, J-C. 2003. 2-D optical quantification of particle reworking activities in marine surface sediments. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*, 285-286:251-263.
- Gilbert, F., Stora, G. & Bertrand, J-C. 1996. In situ bioturbation and hydrocarbon fate in an experimental contaminated mediterranean coastal ecosystem. *Chemosphere*, 33(8):1449-1458.
- Giordani, P., Hammond, D.E., Berelson, W.M., Montanari, G., Poletti, R., Milandri, A., Frignani, M., Langone, L., Ravaioli, M., Rovatti, G. & Rabbi, E. 1992. Benthic fluxes and nutrient budges for sediments in the Northern Adriatic sea: burial and recycling efficiencies. *Science of the Total Environment, Supplement*, pp. 251-275.
- Gobeil, C., MacDonald, R., Smith, J. & Beaudin, L. 2001. Atlantic water flow pathways revealed by lead contamination in arctic basin sediments. *Science*, 293:1301-1304.
- Goldberg, E.D. & Koide, M. 1962. Geochronological studies of deep sea sediments by the ionium/thorium method. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 26:417-450.
- Gonçalves, M.L.S. 1990. Métodos experimentais para análise de soluções. *Análise Quantitativa*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 787 pp.
- Green, M.A., Aller, R.C., Cochran, J.K., Lee, C. & Aller, J.Y. 2002. Bioturbation on the shelf/slope sediments of cape Hatteras, North Carolina: the use of ²³⁴Th, Chl-a, and Br- to evaluate rates of particle and solute transport. *Deep-sea Research II*, 49:4627-4644.
- Groenendijk, A. & Vink-Lieavaart, M. 1987. Primary production and biomass on a Dutch salt marsh: Emphasis on the belowground component. *Vegetatio*, 14:180-191.
- Haines, B. & Duun, E. 1985. Coastal marshes. In: *Physiological Ecology of North American Plant Communities*. (Eds. Chabot B., Mooney H.) London, Chapman and Hall, pp. 323-347.
- Hansel, C, Fendorf, S., Sutton, S. & Newville, M. 2001. Characterization of Fe planque and associated metals on the roots of mine waste impacted aquatic plants. *Environmental Sciences and Technology*, 35:3863-3868.
- Heilskov, A.C. & Holmer, M. 2001. Effects of benthic fauna on organic matter mineralization in fish-farm sediments: importance of size and abundance. *ICES Journal of Marine Science*, 58:427-434.

- Helder, W. & Andersen, F.O. 1987. An experimental approach to quantify biologically mediated silicate transport at the sediment-water interface. *Marine Ecology Progress Series*, 39:305-311.
- Hoven, H., Gaudette, H. & Short, F. 1999. Isotope ratios of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ in eelgrass, *Zostera marina*, indicate sources of Pb in an estuary. *Marine Environmental Research*, 48:377-387.
- Hughes, D.J., Atkinson, R.J.A. & ansell, A.D. 2000. A field test of the effects of megafaunal burrows on benthic chamber measurements of sediment-water solute fluxes. *Marine Ecology Progress Series*, 195:189-199.
- Hylleberg, J. & Henriksen, K. 1980. The central role of bioturbation in sediment mineralization and element re-cycling. *Ophelia*, Suppl. 1:1-16.
- Jacob, D. & Otte, M. 2003. Conflicting processes in the wetland plant rhizosphere: metal retention or mobilization?. *Water Air and Soil Pollution*, 3:91-104.
- Jones, S.E. & Jago, C.F. 1993. In situ assessment of modification on sediment properties by burrowing invertebrates. *Marine Biology*, 115:133-142.
- Kim, G., Alleman, L. & Church, T. 2004. Accumulating records of radionuclides and trace metals in two contrasting Delaware salt marshes. *Marine Chemistry*, 87:87-96.
- Kogure, K. & Wada, M. 2005. Impacts of macrobenthic bioturbation in marine sediment on bacterial metabolic activity – Minireview. *Microbes and Environments*, 20(4):191-199.
- Kong, J., et al. 2000. Nanotube molecular wires as chemical sensors. *Science*, 287: 622.
- Kramer, K., Brockmann, U. & Warwick, R. 1994. Tidal estuaries: manual of sampling and analytical procedures. A.A Balkema, Rotterdam, 304 pp.
- Kristensen, E. 1984. Effect of natural concentrations on nutrient exchange between a polychaete burrow in a estuarine sediment and the overlying water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 75:171-190.
- Kristensen, E. 2001. Impact of polychaetes (*Nereis* spp. and *Arenicola marina*) on carbon biogeochemistry in coastal marine sediments. *Review. Geochemical Transactions*, 12.
- Kristensen, E. 2003. Effect of bioturbation on degradation of refractory organic matter with emphasis on microbial activity and community composition as a function of burrow density. *Sokratis Papaspyrou*, pp.1-4.
- Kristensen, E. & Blackburn, T.H. 1987. The fate of organic carbon and nitrogen in experimental marine sediment systems: influence of bioturbation and anoxia. *Journal of Marine Research*, 45:231-257.
- Kure, L.K. & Forbes, T.L. 1997. Impact of bioturbation by *Arenicola marina* on the fate of particle-bound fluoranthene. *Marine Ecology Progress Series*, 156:157-166.

- Kylander, M., Weiss, D., Cortizas, A., Spiro, B., Sanchez, R. & Coles, B. 2005. Refining the pré-industrial atmospheric Pb isotope evolution curve in Europe using and 8000 year old peat core from NW Spain. *Earth and Planetary Science Letters*, 240:467-485.
- Lana, P.C., Guiss, C. & Disaró, S.T. 1991. Seasonal variation of biomass and production dynamics for above and belowground components of a *Spartina alterniflora* marsh in the euhaline sector of Paranaguá Bay (SE Brazil). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 32:23-41
- Lavrado, J.P. 2003. Distribuição e reactividade de mercúrio em sedimentos do estuário do Tejo. Tese de Licenciatura, Universidade de Lisboa, 172 pp.
- Lovely, D. & Phillips, E. 1988. Manganese inhibition of microbial iron reduction in anaerobic sediments. *Geomicrobiology Journal*, 6:145-155.
- MacFarlane, G., Pulkownik A. & Burchet, M. 2003. Accumulation and distribution of heavy metals in grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. *Environmental Pollution*, 123:139-151.
- Madureira, M., Vale, C. & Gonçalves, M. 1997. Effects of plants on sulphur geochemistry in the Tagus salt-marshes sediments. *Marine Chemistry*, 58:27-37.
- Marcantonio, F., Flowers, G. & Templin, N. 1999. Lead contamination in a wetland watershed: isotopes as fingerprints of pollution. *Environmental Geology*, 39:1071-1076.
- Marinelli, R.L. 1994. Effects of borrow ventilation on activities of a terebellid polychaete and silicate removal from sediment pore waters. *Limnology and Oceanography*, 39:303-317.
- Masson, S. Desrosier, G. & Retière, C. 1995. Périodicité d'alimentation du polychète *Nereis diversicolor* (O.F. Muller) selon les changements de la marée. *Ecoscience*, 2(1):20-27.
- Meadows, P.S. & Hariri, M.S. 1991. Effects of two infaunal polychaetes on sediment shear strength and permeability: an experimental approach. *Symposium of Zoological Society of London*, 63:319-321.
- Meadows, P.S., Tate, J. & Hussain, A. 1990. Effects of estuarine infaunal on sediment stability and particle sedimentation. *Hydrobiologia*, 190:263-266.
- Meadows, P.S. & Tufail, A. 1986. Bioturbation, microbial activity and sediment properties in a estuary ecosystem. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 90B: 129-142.
- Meysman, F.J.R., Boudreau, B.P. & Middelburg, J.J. 2003. Relations between local, non-local, discrete and continuous models of bioturbation. *Journal of Marine Research*, 61:391-410.
- Michaud, E., Desrosiers, G., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B. & Stora, G. 2005. The functional group approach to bioturbation: The effects of biodiffusers and gallery-diffusers on the *Macoma balthica* community on sediment oxygen uptake. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 326:77-88.
- Michaud, E., Desrosiers, G., Mermillod-Blondin, F., Sundby, B. & Stora, G. 2006. The functional group approach to bioturbation: II. The effects of the *Macoma balthica*

- community on fluxes of nutrients and dissolved organic carbon across the sediment-water interface. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 337:178-189.
- Morris, A. W. 1985. Estuarine Chemistry and General Survey Strategie. In: *Practical Estuarine Chemistry – A Handbook*, (Eds. Head, P. C.) Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-60.
- Morse, J. 1994. Interaction of trace metals with authigenic sulphide minerals: implications for their bioavailability. *Marine Chemistry*, 46:1-6.
- Mouritsen, K.N., Mouritsen, L.T. & Thomas Jensen, K.T. 1998. Change of topography and sediment characteristics on an intertidal mudflat following mass-mortality of the amphipod *Corophium volutator*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78:1167-1180.
- Mugnai, C., Gerino, M., Frignani, M., Sauvage, S. & Bellucci, L.G. 2003. Bioturbation experiments in the Venice Lagoon. *Hydrobiologia*, 494:245-250.
- Mulsow, S., Landrum, P.F. & Robbins, J.A. 2002. Biological mixing responses to sublethal concentrations of DDT in sediments by *Heteromastus filiformis* using ¹³⁷Cs layer technique. *Marine Ecology Progress Series*, 29:181-191.
- Nogaro, G., François, C., Mendonça, J.B., Mermillod-Blondin, F., Stora, G. & François-Carcaillet, F. 2007. Food supply impacts sediment reworking by *Nereis diversicolor*. *Hydrobiologia*, Short Research Note.
- Olivier, M. 1994. Ethologie comparée de l'alimentation de deux espèces vicariantes de la communauté à *Macoma balthica*: *Nereis diversicolor* (Baie du Mont saint Michel, France) et de *Nereis virens* (Estuaire maritime du St. Laurent, Canada). Thèse de doctorat es science, université du Québec à Rimouski.
- Otte, M.L., Haarsma, M.S., Broekman, R.A. & Rozema, J. 1993. Relation between heavy metal concentrations in salt marsh plants and soil. *Environmental Pollution*, 82:13-22.
- Packamn, J.R. & Willis, A.J. 1997. *Ecology of Dunes, Salt Marsh and Shingle*. Published by Chapman & Hall, UK.
- Petersen, K., Kristensen, E. & Bjerregaard, P. 1998. Influence of bioturbating animals on flux of cadmium into estuarine sediment. *Marine Environmental Research*, 45(4/5):403-415.
- Rasmussen, A.D., Banta, G.T. & Andersen, O. 1998. Effects of bioturbation by the lungworm *Arenicola marina* on cadmium uptake and distribution in sandy sediments. *Marine Ecology Progress Series*, 164:179-188.
- Reboreda, R. & Caçador, I. 2007a. Copper, zinc and lead speciation in salt marsh sediments colonised by *Halimione portulacoides* and *Spartina marítima*. *Chemosphere*, 69(10):1655-1661
- Reboreda, R. & Caçador, I. 2007b. Halophyte vegetation influences in salt marsh retention capacity for heavy metals. *Environmental pollution*, 146:147-154.

- Reboreda, R. & Caçador, I. 2008. Enzymatic activity in the rhizosphere of *Spartina marítima*: Potencial contribution for phytoremediation of metals. *Marine Environmental Research*, 65:77-84.
- Reboredo, F. 1988. Alguns aspectos sobre a acumulação de ferro, cobre e zinco por *Halimione portucaloides* (L.) Aellen. Tese de Doutoramento, Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia.
- Richardson, C.J. 1999. Plenary Session Presentation: Ecological Functions of Wetlands in the Landscape. In: *Ecotoxicology and Risk Assessment for Wetlands*, (Eds. Lewis et al.), SETAC Press, Florida-USA, pp. 9-25.
- Riisgard, H.U. 1991. Suspension feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 70:29-37.
- Rysgaard, S., Christensen, P.B. & Nielsen L.P. 1995. Seasonal variations in nitrification and denitrification in estuarine sediment colonized by benthic microalgae and bioturbating infauna. *Marine Ecology Progress Series*, 126:111-121.
- Saldanha, L. 1980. Povoamentos bentónicos, peixes e ictioplancton do estuário do Tejo. *Estudo Ambiental do Estuário do Tejo*. CNA/Tejo, nº5 – Relatório 4. Lisboa.
- Schink, D.R. & Guinasso, N.L. 1977. Effects of bioturbation on sediment-seawater interaction. *Marine Geology*, 23:133-154.
- Shand, P. 1991. Sediment movement around mussels: flume experiments on critical erosion velocities and sorting. *Symposium of Zoological Society of London*, 63:313-316.
- Shaw, T. Gieskes, J. & Jahnke, R. 1990. Early diagenesis in different depositional environments: the response of transition metals in pore water. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 54:1233-1246.
- Silverberg, N., Nguyen, H.V. Delibrias, G. et al. 1986. Radionuclide profiles, sedimentation rates, and bioturbation in modern sediments of the Laurentian trough, gulf of St Lawrence. *Oceanologica Acta*, 9:285-290.
- Sirgado, P.M. 1995. Contaminação de sedimentos da cala do Norte do estuário do Tejo. *ECOTEJO, Relatório A-8503-02-99-UNL*, Ed. DCE/FCT, 32 pp.
- Smith, D., Hudghes, R.G. & Cox, E.J. 1996. Predation of epipelagic diatoms by the amphipod *Corophium volutator* and the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series*, 145:53-61.
- Solan, M., Wigham, B.D., Hudson, I.R., Kennedy, R., Coulon, C.H., Norling, K., Nilsson H.C. & Rosenberg, R. 2004. In situ quantification of bioturbation using time-lapse fluorescent sediment profile imaging (f-SPI), luminophore tracers and model simulation. *Marine Ecology Progress Series*, 271:1-12.
- Sorensen, J. 1978. Occurrence of nitric and nitrous oxides in a coastal marine sediment. *Applied Environmental Microbiology*, 36:809-813.

- Sousa, A.I., Caçador, I., Lillebø e Pardal, M.A. 2008. Heavy metal accumulation in *Halimione portulacoides*: Intra- and extra-cellular metal binding sites. *Chemosphere*, 70:850-857.
- Stumm, W. & J., Morgan. 1996. Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in natural Waters. John Wiley & Sons, Canada, 1032 pp.
- Sundby, B. 2006. Transient state diagenesis in continental margin muds. *Marine Chemistry*, 102:2-12.
- Sundby, B., Caetano, M., Vale, C., Gobeil, C., Luther, G. & Nuzzio, D. 2005. Root induced cycling of lead in salt marsh sediments. *Environmental Science & Technology*, 39:2080-2086.
- Sundby, B., Vale, C., Caçador, I., Madureira, M. & Caetano, M. 1998. Metal-rich concretions on the roots of the salt marsh plants: mechanism and rate of formation. *Limnology Oceanography*, 43:245-252.
- Sundby, B., Vale, C., Caetano, M. & Luther, G. 2003. Redox chemistry in the root zone of a salt marsh sediment in the Tagus estuary, Portugal. *Aquatic Geochemistry*, 9:257-271.
- Svensson, J.M., Carrer, G.M. & Bocci, M. 2000. Nitrogen cycling in sediments of the lagoon of Venice, Italy. *Marine Ecology Progress Series*, 199:1-10.
- Swift, D.J.P., Stull, J.K., Niedoroda, A.W., Reed, C.W. & Wong, G.T. 1996. Contaminant dispersal on the Palos Verdes continental margin:II. Estimates of the biodiffusion coefficient, Db, from composition of the benthic infaunal community. *Science of the Total Environment*, 179:91-107.
- Tamaki A. & Suzukawa, K. 1991. Co-occurrence of the cirrolanid isopod *Eurydice nipponica* BRUCE & JONES and the ghost shrimp *Calianassa japonica* ORTMANN on an intertidal sand flat. *Ecology Research*, 6:87-100.
- Teal, J.M. 1986. The ecology of regularly flooded marshes of New England: A community profile. *Biological Reports*, 85.
- Thomsen, V., Schatzlein, D. & Mercuro, D. 2003. Limits of detection in spectroscopy. *Spectroscopy*, 18(12):112-114.
- Tinker, P.B. & Barraclough, P.B. 1988. Root-soil interactions. In: *Reactions and Processes*, Vol.2, Part D: Handbook of Environmental Chemistry (Ed. O. Hutzinger), Springer - Verlag, Berlin, pp. 153-171.
- Tita, G., Desrosiers, G., Vinck, M. & Nozais, C. 2000. Predation and sediment disturbance effects of the intertidal polychaete *Nereis viriens* (Sars) on associated meiofaunal assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 243:261-282.
- Turnewitsch, R., Witte, U. & Graf, G. 2000. Bioturbation in the abyssal Arabian sea: influence of fauna and food supply. *Deep-Sea Research II*, 47:2877-2911.
- Vale, C. 1986. Transport of particulate metals at different fluvial and tidal energies in the Tagus estuary. *Rapp P.-v. Réun. Cons. Int. Explo. Mer*, 186:306-312.

- Vale, C. 1989. A Importância dos sedimentos no ciclo de poluentes metálicos no meio aquático. Boletim SPQ, 38: 49-52.
- Vale, C. 1990. Temporal variations of particulate metals in the Tagus river estuary. Science of the Total Environment, 97/98:137-154.
- Vale, C., Caetano, M. & Raimundo, J. 2003. Incorporation of trace elements on iron-rich concretions around plant roots of Tagus estuary salt marsh (Portugal). Journal of Soils & Sediments, 3(3):208-212.
- Vale, C. & Sundby, B. 1998. The Interactions between living organisms and metals in intertidal and subtidal sediments, in Metal Metabolism in Aquatic Environments, (eds. W.J. Langston and M.J. Bebianno), Chapman & Hall, London, pp. 19-29.
- Vardanyan, L. & Ingole, B. 2006. Studies on metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. Environmental Pollution, 32:208-218.
- Vedel, A. 1998. Phytoplankton depletion in the benthic boundary layer caused by suspension-feeding *Nereis diversicolor* (Polychaeta): grazing impact and effect of temperature. Marine Ecology Progress Series, 163:125-132.
- Verón, A., Flament, P., Bertho, M., Alleman, L., Flegat, R. & Hamelin, B. 1999. Isotopic evidence of pollutant lead sources in Northwestern France. Atmospheric Environment, 33:3377-3388.
- Wang., Z., Shan, X. & Zhang, S. 2002. Comparation between fractionation and bioavailability of trace elements in rhizosphere and bulk soils. Chemosphere, 46:1163-1171.
- Watson, P.G., Frickers, P.E. & Howland, R.J.M. 1993. Benthic fluxes of nutrients and some trace metals in the Tamar estuary, SW England. Netherlands Journal of Aquatic Ecology, 27:135-146.
- Weis, J. & Weis, P. 2004. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. Environment International 30:685-700.
- Weis, P., Windham, L., Burke, D. & Weis, J. 2002 Release into the environment of metals by two vascular salt marsh plants. Marine Environment Research, 54:325-329.
- Wheatcroft, R.A., Jumars, P.A., Smith, C.R. & Nowell, A.R.M. 1990. A mechanistic view of the particulate biodiffusion coefficients: step lengths, rest periods and transport directions. Journal of Marine Research, 48:177-207.
- Widdicombe, S. & Austen, M.C. 1999. Mesocosms investigation into the effects of bioturbation on the diversity and structure of a subtidal macrobenthic community. Marine Ecology Progress Series, 189:181-193.
- Widdows, J., Brinsley, M.D., Bowley, N. & Barret, C. 1998a. A benthic annular flume for in situ measurement of suspension feeding/biodeposition rates and erosion potencial of intertidal cohesive sediments. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 46:27-38.

- Widdows, J., Brinsley, M.D. & Elliott, M. 1998b. Use of in situ flume to quantify particle flux (deposition rates and sediment erosion) for an intertidal mudflat in relation to changes in current velocity and benthic macrofauna. In *Sedimentary processes in the intertidal zone*, (Eds. Black, K.S., Paterson, D.M. & Cramp, A.) Special publications,. London. Geological Society, vol. 139, pp. 85-97.
- Widdows, J., Brinsley, M.D., Salkeld, P.N. & Elliott, M. 1998c. Use of annular flumes to determine the influence of current velocity and biota on material flux at the sediment-water interface. *Estuaries*, 21:552-559.
- Widdows, J., Brinsley, M.D., Salkeld, P.N. & Lucas, C.H. 2000a. Influence of biota on spacial and temporal variation in sediment erodability and material flux on a tidal flat (Westerschelde, The Netherlands). *Marine Ecology Progress Series*, 194:23-37.
- Widdows, J., Brown, S., Brinsley, M.D., Salkeld, P.N. & Elliott, M. 2000b. Temporal changes in intertidal sediment erodability: influence of biological and climatic factors. *Continental Shelf Research*, 20:1275-1289.
- Windham, L., Weis, J., Weis & P. 2003. Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis* (common reed). *Estuary Coastal and Shelf Science*, 56:63-72.
- Windom, H., Schropp, S., Calder, F., Ryan, J., Smith, R., Burney, L. et al. 1989. Nature trace metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments of the Sountheastern United States. *Environmental Sciences and Technology*, 23:314-320.
- Williams, T.P. 1985. Analysis: organic matter. In: *Practical Estuarine Chemistry*, (Ed. P. Head), Cambridge University Press, England, pp.160-200.
- Williams, T.P., Bubb, J.M.& Lester, J.N. 1994. Metal accumulation within salt marsh environments: a review. *Marine. Pollution. Bulletin*. 28(5):277-290.

Referências da Internet:

www.ozestuaries.org

www.ine.pt